

INVESTIGACIONES Y DESARROLLOS TECNOLÓGICOS EN MÉXICO



TOMO II

BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

PREFACIO

El presente compendio reúne trabajos de investigación y desarrollo tecnológico realizados en diversas áreas de la ciencia, cuyo objetivo principal es contribuir a la difusión del quehacer científico y tecnológico que se realiza en México, así como promover el trabajo interdisciplinario entre miembros de diferentes disciplinas científicas.

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

Octubre de 2023
León, Gto., México

Amalia Martínez García
Cristina E. Solano Sosa
María Eugenia Sánchez Morales
Gloria Verónica Vázquez García
Alexandra Monsetrrat García

TABLA DE CONTENIDO

CINÉTICA DE CRECIMIENTO MICELIAL DE <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> EN SUSTRATOS DE <i>QUERCUS CASTANEA</i> Y <i>ZEA MAYZ</i> , PARA LA OBTENCIÓN DE BIOPLÁSTICOS	4
EROVULACIÓN EN HÁMSTER SIRIO DORADO CON SUERO DE YEGUA ALMACENADO POR 3 AÑOS	11
DERIVA DE FIBROBLASTOS DE PIEL DE BOVINOS ÉLITE POR DIVERSOS MÉTODOS PARA BANCO DE GERMOPLASMA	18
EFFECTO DE LA TEMPERATURA DE COCCIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE FIBRA DIETARIA DE DOS VARIEDADES DE LENTEJA (<i>LENS CULINARIS</i>)	24
HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE ZARZAMORA (<i>Rubus</i> sp.)	30
CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS DE JITOMATE EN LA ECONOMÍA CIRCULAR DE LA CADENA PRODUCTIVA.....	42
RELACIÓN DEL OZONO COMO BIOESTIMULANTE EN EL CULTIVO DE TOMATE BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO	53
RELACIÓN DEL OZONO COMO BIOESTIMULANTE EN EL CULTIVO DE TOMATE BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO	60
PSEUDOMONAS OXIDADORA DE COMPUESTOS XENÓBIOTICOS TIPO HIDROCARBUROS Y HERBICIDAS.....	67
INDICADORES DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE NUEVAS VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (<i>Saccharum</i> spp. Híbridos) EN FASE SEMILLERO	74
FOSFITO EN EL CONTROL DE <i>Phytophthora capsici</i> (Leonian) EN COMPATIBILIDAD CON <i>Bacillus amyloliquefaciens in vitro</i>	79
EL TALIO ALTERA LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILAS Y CAROTENOIDES EN HOJAS DE CHILE (<i>Capsicum annuum</i> L.)	84
TRATAMIENTO DE PLAGUICIDAS EN AGUA DE CUENCAS MEDIANTE EL USO DE TECNOLOGÍAS VERDES.....	89
COMPARACIÓN PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y ANTIOXIDANTES DE HORTALIZAS DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICA Y COMERCIAL	101
INTRODUCCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS EN LA MICROALGA <i>Neochloris Oleoabundans</i> MEDIANTE LA APLICACIÓN DE EXTRACTOS CELULARES	118
EFFECTO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LA OVULACIÓN DE HÁMSTER.....	124
APLICACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN DE MUCÍLAGO DEL NOPAL DE LAS ESPECIES <i>OPUNTIA FICUS-INDICA</i> Y <i>OPUNTIA ROBUSTA</i>	129
DISEÑO DE UN PROTOTIPO AUTOMATIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES EN FUNCIÓN DE LA LUMINOSIDAD	135
NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPs) EN EL CRECIMIENTO Y PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS DEL SIMBIOSISTEMA <i>Azolla-Anabaena azollae</i>	143
NEODIMIO EN EL CONTENIDO DE AZUFRE EN VÁSTAGOS DE PLÁNTULAS CHÍA.....	149
VANADIO EN EL NÚMERO DE FLORES EN PLÁNTULAS DE TOMATE TRATADAS CON SALINIDAD.....	155
EFFECTO DE LA DIGESTIÓN <i>IN VITRO</i> SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PROTEÍNAS DE AMARANTO EN CÉLULAS INTESTINALES Y HEPÁTICAS HUMANAS.....	161

EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN EN LA CALIDAD DE BALLICO ANUAL.....	173
FÓSFORO Y POTASIO EN AGUA DE COCO PARA CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE PLANTAS	182
ESTUDIO Y DISEÑO DE UN CONTROLADOR (LED) PARA EL ESTUDIO DE LAS COMBINACIONES DE LUZ SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE LAS PLANTAS	188
ACTIVIDAD DE MICROORGANISMOS CELULOLÍTICOS PROVENIENTES DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA “SIERRA DE LOS AGUSTINOS” GUANAJUATO, MÉXICO.....	198
DIFERENTES ESTRATEGIAS DE MODIFICACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS LIPASAS DE <i>Candida antarctica</i> y <i>Thermomyces lanuginosus</i> INMOVILIZADAS SOBRE OCTIL-AGAROSA..	204
EFFECTO DEL RESVERATROL SOBRE ERO Y GSH POST VITRIFICACIÓN EN BLASTOCISTOS OVINOS.....	208
CARACTERIZACIÓN DE QUERATINASAS OBTENIDAS DE HONGOS AISLADOS DE RESIDUOS DEL PELAMBRE EN UNA INDUSTRIA CURTIDORA EN LEÓN, GTO	215
USO DE UNA COMPOSTA ADICIONADA CON PLASMA BOVINO EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE JITOMATE.....	222
METALES NO ESENCIALES EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CHILE JALAPEÑO..	229
TRATAMIENTO TÉRMICO AFECTA LA COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LA SEMILLA DE CACHICHÍN.....	235
ÁREA FOLIAR Y ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA DE COL BAJO ESTRÉS SALINO Y DIFERENTES DOSIS DE AZUFRE	239
AGUA DE COCO MEJORA EL CRECIMIENTO DE DENDROBIUM SP. (ORCHIDACEAE) EN CONDICIONES <i>IN VITRO</i>	244
EVALUACIÓN DE UN HIDROGEL A BASE DE POLIACRILATO DE SODIO SOBRE EL CRECIMIENTO DE <i>Phaseolus vulgaris</i> L (FRIJOL NEGRO).....	250
EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD REDUCTORA DE CR (VI) A CR (III) EN CULTIVOS POR <i>TRICHODERMA HARZIANUM</i> EN MEDIO LEE Y MEDIO MURASHIGE Y SKOOG	253
CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS BACTERIANOS DE SUELO DE LA SIERRA DE LOS AGUSTINOS	260
EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE IMBIBICIÓN SOBRE PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS SEMILLAS DE LENTEJA (<i>Lens culinaris</i>)	269
ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE CULTIVO POR EL USO DE ACOLCHADOS	277
ALGODÓN: COMPARACIÓN DE LA SOLIDEZ DEL COLOR DEL TEÑIDO CON GRANA COCHINILLA CONTRA EL COLORANTE SINTETICO	282
CONTROL DE DEUTEROMICETOS MEDIANTE TERAPIA FOTODINAMICA.....	287
MEJORAMIENTO DE SUELO SALINO POR ADICIÓN DE BIOMASA DE DEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS	304
EMPLEANDO LA ESPECTROSCOPIA DE FT-IR Y UV-VISIBLE PARA LA EVALUACIÓN DE LA ELICITACIÓN CON ÁCIDO SALICÍLICO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN PLANTAS DE MANZANILLA (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	311
EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNO-FUNCIONALES DE TORTILLA DE MAÍZ Y HARINA DE LEGUMBRE.....	324
GERMINACIÓN DE <i>Enterolobium cyclocarpum</i> EN EL LIMÓN GUADALUPE, MUNICIPIO DE TLACOACHISTLAHUACA, GUERRERO, MÉXICO	333

CAPACIDAD DE EMISIÓN DE CHUPONES, TALLOS MOLEDEROS Y ACUMULACIÓN DE AZÚCARES EN TALLOS EN NUEVAS VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (<i>Saccharum</i> spp.)	341
DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE PROTEÍNAS DE SUERO DE LECHE Y SU EFECTO EN LA SECRECIÓN DE CCK EN CÉLULAS STC-1	347
EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE TOMATE (<i>LYCOPERSICON ESCULENTUM</i> MILL.) EN INVERNADERO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE TÉ DE LOMBRICOMPOSTA AL SUELO	355
BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON RAÍZ DE <i>Jatropha dioica</i> PARA LA OBTENCIÓN DE UN NANOHÍBRIDO Au-TCPP CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL	362
EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MUCÍLAGO DE NOPAL EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL SUELO Y EL RENDIMIENTO DEL CILANTRO (<i>CORIANDRUM SATIVUM</i>)	375
EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DE LA PLANTA PALO DE BRASIL (<i>HAEMATOXYLUM BRASILETTO</i>)	383
ELABORACIÓN DE CREMA DE CACAHUATE A BASE DE SUSTITUTOS DE ENDULZANTES NATURALES	390
CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN GUAYABA	403
ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN EMBRIONES DE HÁMSTER EN ESTADOS INICIALES DE LA SEGMENTACIÓN	414
EFECTO DE LA APLICACIÓN EXÓGENA DE ALFA-TOCOFEROL EN PLANTAS DE FRIJOL..	423
IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE MOSCAS DE LA FRUTA DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN MANGOS DE TRASPATIOS DE LOMBARDÍA, MICHOACÁN	432
BIOPELÍCULAS A BASE DE MUCÍLAGO Y NANOPARTÍCULAS CON PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS	444
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO A PARTIR DE SUELO AGRÍCOLA	450
EFECTO DE EXTRACTOS DE HOJA DE MUÉRDAGO Y QUITOSANO EN PLANTAS DE JITOMATE EN CONDICIONES DE INVERNADERO	458
MÉTODOS PREGERMINATIVOS EN DELONIX REGIA	463
EFECTO BIOESTIMULANTE DE FOSFITO EN RAÍZ EN PLANTAS DE CHAYOTE (<i>Sechium edule</i>)	471
CONCENTRACIÓN DE Ca, Mg, S, Al y Na EN SEMILLA CACHICHÍN: CON PERSPECTIVA NUTRICIONAL	475
<i>METHYLOBACTERIUM (METHYLORUBRUM)</i> SP COMO BACTERIA PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR) CON CAPACIDAD DE BIORREMEDIACIÓN	480
EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS CRUDOS DE <i>Lentinula edodes</i> (SHIITAKE)	488
BIOACCESIBILIDAD Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE INFUSIÓN DE HOJAS DE <i>FICUS CARICA</i> DURANTE LA DIGESTIÓN <i>IN VITRO</i>	495
GOMA DE DULCE ELABORADO A BASE DE PLANTAS MEDICINALES PARA DISMINUIR LA CEFALEA TENSIONAL MÁS COMÚN	502

CINÉTICA DE CRECIMIENTO MICELIAL DE *PLEUROTUS OSTREATUS* EN SUSTRATOS DE *QUERCUS CASTANEA* Y *ZEAMAYZ*, PARA LA OBTENCIÓN DE BIOPLÁSTICOS

Diana Stephanie Ocegueda Vega, Nelly Flores Ramírez, Salomón Ramiro Vásquez García, Marco Antonio Vilchis García

Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

nelly.flores@umich.mx

RESUMEN

A partir del crecimiento biológico y natural de los hongos, en sustratos de residuos orgánicos, se pueden obtener bioplásticos con propiedades similares a los plásticos de origen fósil, con la diferencia, que son biodegradables y sustentables. Durante la colonización, el micelio actúa como un adhesivo natural uniendo las partículas del sustrato, a través de una red de filamentos (hifas). Por otra parte, los residuos generados al momento de la transformación física de la madera y de la cosecha del maíz: las astillas, aserrín y olote respectivamente, se generan en grandes volúmenes, como subproductos en la industria agroforestal. En esta investigación, se estudió el desarrollo cinético del micelio de *Pleurotus ostreatus* a partir de la biotransformación de los residuos agroforestales: astillas y aserrín de *Quercus castanea* y olote de *Zea mayz*. Para lo cual, se diseñaron 5 relaciones de sustratos y se inocularon con el hongo: S1: 100% astillas, S2: 50% astilla - 50% olote, S3: 100% aserrín, S4: 50% aserrín - 50% olote, S5: 100% olote. El desarrollo de la biomasa micelial se evaluó por medio de la Eficiencia biológica del crecimiento del hongo (EB) a los 10, 20 y 30 días, y las características microestructurales del material compuesto, se analizó por microscopía electrónica de barrido (MEB). Los resultados mostraron mayor velocidad de crecimiento de micelio y una alta EB final superior al 90%, para los sustratos que contienen olote de maíz (S2, S4 y S5), la morfología de los bioplásticos, evidencia la formación de sus células hifales entrecruzadas. Se determinó que los sustratos, además, de las condiciones adicionales como humedad, oxígeno, acceso a nutrientes contribuyen en la producción del bioplástico.

INTRODUCCIÓN

La alta demanda de plástico y el aumento de producción agroforestal, han traído importantes consecuencias ambientales en los diferentes ecosistemas. La sustitución del plástico tradicional por bioplástico, así como el reciclaje de subproductos agroforestales, son una estrategia que contribuye una solución a la contaminación ambiental y la escasez de recursos naturales (Elsacker et al., 2022; Worawoot et al., 2022).

El micelio, es la parte vegetativa de los hongos, que consiste en estructuras tubulares y alargadas que se interconectan en forma de redes, llamadas hifas (Soh & Ferrand, 2022). Las hifas, son células rodeadas por una pared celular rígida compuesta por quitina, glucanos y glicoproteínas. Estas células, crecen naturalmente degradando y uniendo las partículas de residuos agroforestales fungiendo como un adhesivo natural dando como resultado bioplásticos ecológicos; que se integran al modelo de economía verde, ya que producen y se degradan integrándose a un biociclo en la sociedad (Gan et al., 2022). Las aplicaciones más utilizadas de estos bioplásticos, son como materiales de aislamiento térmico y acústico en la construcción, como embalaje sustituyendo al poliestireno expandido, y como textil vegetal (Yang et al., 2021). Así también, la aplicación de los bioplásticos puede ser ajustada de acuerdo a las especies de hongos, sustratos, condiciones de crecimiento y el método de procesamiento posterior (Antinori et al., 2020).

Por otra parte, los olotes de maíz, astillas y aserrín de la madera de encino, se generan en grandes cantidades como subproductos en la industria agroforestal, estos residuos orgánicos constituyen una buena fuente de nutrimentos al utilizarlos como sustratos, que pueden ser sometidos a una

transformación biológica de colonización de micelio y generar materiales con mayor valor agregado (Yang, Park, & Zhao, 2021).

En esta investigación, se evalúa la formación de bioplásticos a partir de la biotransformación de residuos agroforestales de *Quercus castanea* y *Zea mayz*, por el hongo *Pleurotus ostreatus*.

PARTE EXPERIMENTAL

Material inicial

- Esporomas de *Pleurotus ostreatus*.
- Aserrín (1.36 ± 0.4 mm tamaño de partícula) y astillas ($3.5 * 0.2 \pm 0.6$ cm tamaño de partícula) de *Quercus castanea*.
- Olote de maíz (1 ± 0.2 cm).

Elaboración de bioplásticos

Para elaborar los bioplásticos, inicialmente, se obtuvo el micelio del hongo, por medio del aislamiento y germinación de esporas obtenidas de los frutos de *P. ostreatus* (esporomas) en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Consecutivamente, se diseñaron 5 mezclas de sustrato realizando 4 réplicas: S1: astillas 100%, S2: astillas 50% -olote 50%, S3: aserrín 100%, S4: aserrín 50% - olote 50% y S5: olote 100%. Los sustratos se prepararon a un pH de 6.5, hidrataron durante 24 horas inmersos en agua y pasteurizaron. Después de la preparación, en moldes cúbicos de 5 cm x 5 cm, se inocularon 3 cm del micelio obtenido en cajas Petri y se llevaron incubación durante 30 días a 28°C. Finalmente se desmoldaron y llevaron a secado a peso constante a 40°C.

Cinética de crecimiento

Se determinó el desarrollo de micelio de *Pleurotus ostreatus* mediante su eficiencia biológica (EB) y cinética, a partir de la biotransformación de los residuos agroforestales: astillas, aserrín de encino y olote a los 10, 20 y 30 días. $EB = (\text{peso de micelio fresco obtenido} / \text{peso de sustrato húmedo utilizado}) * 100$. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante Anova/Tukey con 0.05 de significancia.

Análisis morfológico

La morfología del desarrollo cinético de las células hifales fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) a los 10, 20 y 30 días.

RESULTADOS

Análisis cinético

Los resultados de la EB y cinética de crecimiento del hongo (fig. 1 y 2), mostraron que los sustratos; S1: astillas, S2: astillas/olote, S3: aserrín, S4: aserrín/olote, S5: olote, presentan un efecto significativo en el desarrollo del micelio de *P. ostreatus*, para la producción de bioplásticos a los 10, 20 y 30 días. El *P. ostreatus*, tuvo un mayor y constante crecimiento en los sustratos que contienen olote, obteniendo una EB final superior al 90%, mientras que su desarrollo fue menor en los sustratos de madera aislada S1: aserrín y S3: astillas. Estos resultados, se les atribuyen a los nutrientes de los sustratos y el tamaño de partícula, ya que puede afectar el acceso del micelio a los nutrientes,

agua y oxígeno. Un tamaño de partícula pequeño en el S1: aserrín, dificulta la aireación necesaria para la respiración, y un tamaño muy grande en el S3: astillas, es inadecuado por los grandes espacios generados, haciendo difícil el acceso del micelio a los nutrientes. En los sustratos en mezcla, las partículas del olote lo hacen más favorable para el desplazamiento de las ramificaciones celulares, facilitando la aireación, accesibilidad de nutrientes y retención de agua (Aubrey et al., 2022).

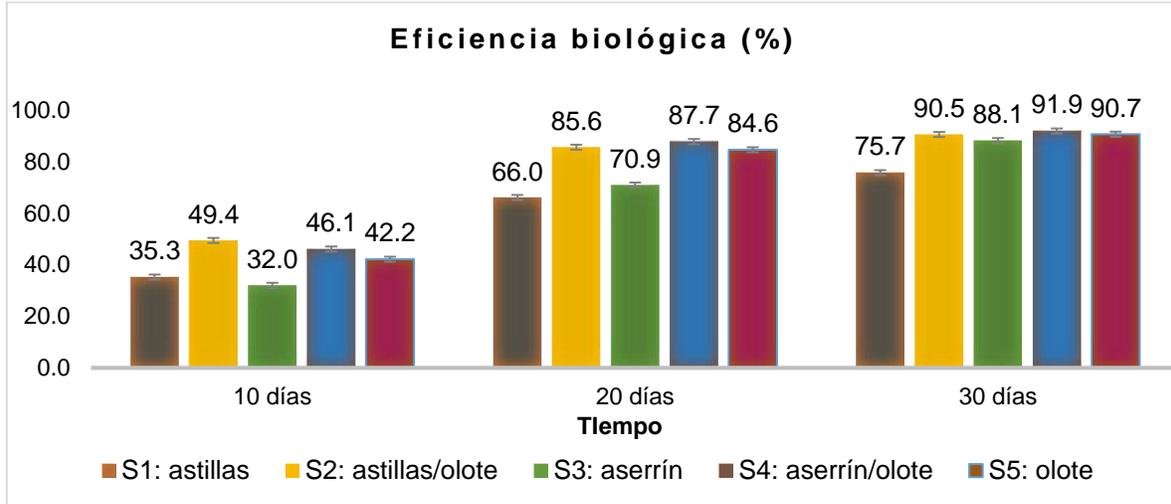


Figura 1. Eficiencia biológica del *Pleurotus ostreatus* desarrollado en los sustratos; S1: astillas, S2: astillas-olote, S3: aserrín, S4: aserrín-olote y S5: olote, a los 10, 20 y 30 días.

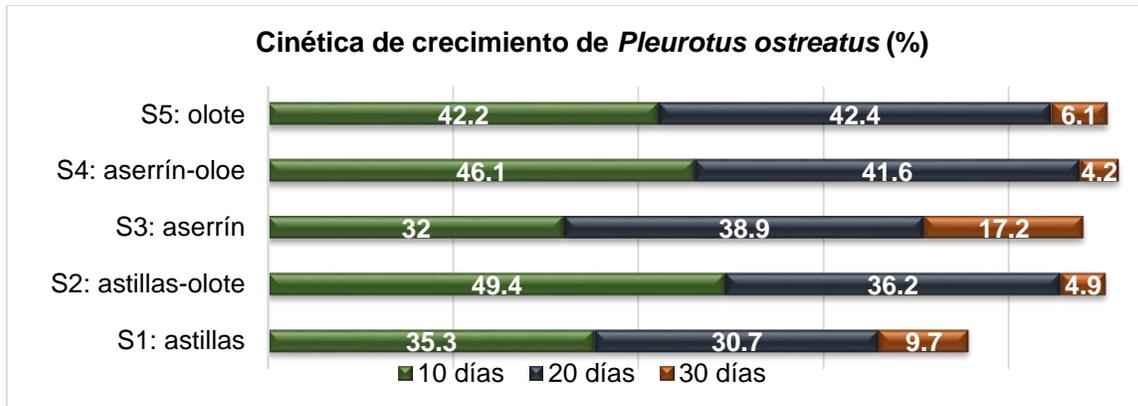


Figura 2. Cinética de crecimiento del *Pleurotus ostreatus* en los sustratos; S1: astillas, S2: astillas/olote, S3: aserrín, S4: aserrín/olote y S5: olote, a los 10, 20 y 30 días.

Análisis morfológico

La fig. 3 muestra las microestructuras de desarrollo de los bioplásticos mediante MEB, exhiben el desarrollo células hifales, tubulares y alargadas que se entrelazan sin orden formando ramificaciones y uniendo las partículas de los sustratos. Algunas células, presentan rugosidades ocasionadas por la presión de turgencia que ocasiona el estrés ambiental, a su vez, muestran diámetros de diversos tamaños en los diferentes sustratos donde se desarrollaron. Las 5 mezclas de sustratos, presentaron diferentes morfologías en las ramificaciones hifales durante su crecimiento (10, 20 y 30 días). El desarrollo de estas células, tiene que ver con el sustrato y las condiciones de incubación. A los 10

días estos sustratos empiezan a mostrar el desarrollo de hifas, con diámetros promedio de $0.9 \pm 0.8 \mu\text{m}$ y $0.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$, los cuales son menores a los demás sustratos (S2: $1.6 \pm 0.3 \mu\text{m}$, S4: $1.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$ y S5: $1.6 \pm 0.5 \mu\text{m}$). Es notorio el aumento de las ramificaciones de células, fusionadas, continuas y amorfas, así, como el aumento de diámetros, en aquellos sustratos que contienen olote (S2, S4 y S5). A los 30 días, todos los sustratos presentan hifas más gruesas con diámetros que llegan hasta los $4.5 \mu\text{m}$, correspondientes a la piel fúngica de los bioplásticos.

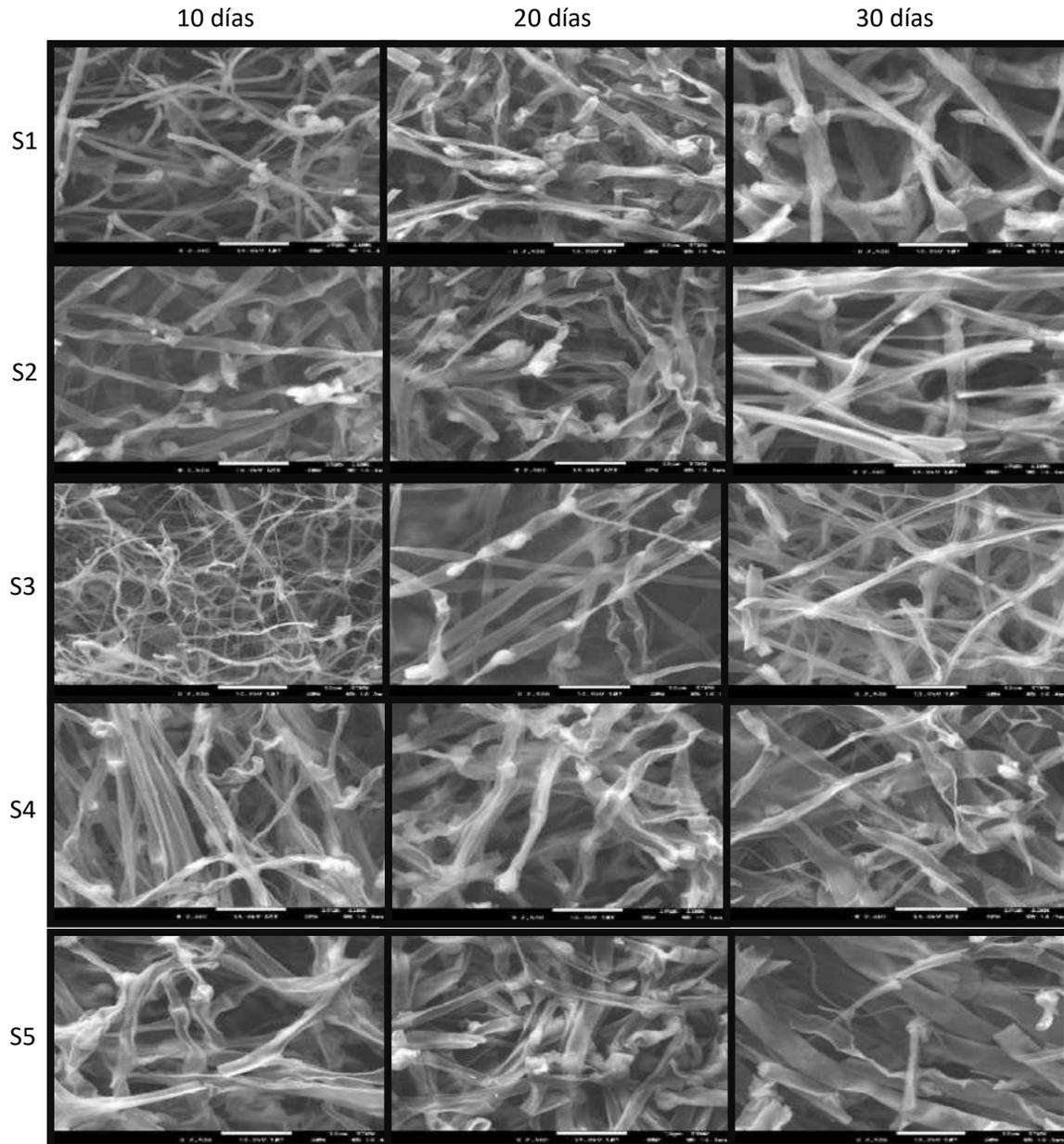


Figura 3. Morfología de hifas de *Pleurotus ostreatus* en los sustratos; S1: astillas, S2: astillas-olote, S3: aserrín, S4: aserrín-olote, S5: olote a 2500x.

CONCLUSIONES

Después de analizar el desarrollo cinético y morfológico del micelio de *Pleurotus ostreatus* entre los sustratos de S1: astillas, S2: astillas-olote, S3: aserrín, S4: aserrín-olote, S5: olote, se determina que estos influyen de forma directa en su crecimiento, presentando mejores resultados en los sustratos con olote S4, S5 y S2. Lo cual está condicionado a los nutrientes y tamaños de partícula, que promueven el acceso a los nutrientes, humedad y oxígeno. Los bioplásticos de micelio, presentan una alternativa ecológica y de bajo costo para remplazar al plástico tradicional de origen fósil.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado Ortega, J. F., & Hernández Castillo, J. J. (2005). Características físico-químicas de las variedades de tomate Bola y Saladett y cultivares criollo tipo Riñon. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Tulancingo de los Bravo, Hidalgo. Obtenido de <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/516/Caracteristicas%20fisico%20quimicas%20tomate%20bola.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Álvarez, E., & González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutr. Hosp*, 61-72.
- Antinori, M. C. (2020). Fine-Tuning of physicochemical properties and growth dynamics of mycelium-based materials. *Applied Biomaterials*, 1031. doi:DOI: 10.1021/acsabm.9b01031
- Aubrey, M. S. (2022). Conversion of oil Palm By-product into value-added products through oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation. *Horticulture*, 8, 1040.
- Balaes, T., Radu, B., & Tañase, C. (2023). Mycelium-Composite Materials—A Promising Alternative to Plastics? *Jornal of Fungi*, 9, 210. doi: <https://doi.org/10.3390/jof9020210>
- Cabrera, J., & Cárdenas, M. (2006). Importancia de la fibra dietética para la nutrición humana. *Rev Cubana Salud Publica* V32 n4, 20-55.
- Calderón Chávez, S., & Cárcamo Solís, M. (2018). Diversificación de la exportación de jitomate *Solanum Lycopersicum* a otros mercados . *Jóvenes en la ciencia*, 4(1), 1762-1766. Obtenido de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2568/1924>
- Candelas Cadillo, M. G., Alanís Guzmán, M. G., & Río Olague , F. (19 de Julio-Diciembre de 2006). Cuantificación de licopeno y otros carotenoides en tomate y polvo de tomate. *Revista Mexicana de Agronegocios*, X(19). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/141/14101911.pdf>
- CESAVEG. (2010). Gobierno del Estado. Obtenido de https://www.academia.edu/14439253/Campa%C3%B1a_Manejo_Fitosanitario_del_Jitomate_Manual_de_Plagas_y_Enfermedades_en_Jitomate
- Cruz Bojórquez, R. M., González Gallego, J., & Sánchez Collado, P. (2013). Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno . *SciELO*. doi:10.3305/nh.2013.28.1.6302
- Cuesta Trejo , A. (2007). El cultivo del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro, División de Agronomía, Coahuila. Obtenido de [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/EL%20CULTIVO%20DE%20L%20TOMATE,\(Lycopersicon%20esculentum%20Mill.\)..pdf?sequence=1#:~:text=El%20tomate%20\(Lycopersicon%20esculetum%20mill\)%20es%20una%20planta%20originaria%20de,y%20abunda](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/EL%20CULTIVO%20DE%20L%20TOMATE,(Lycopersicon%20esculentum%20Mill.)..pdf?sequence=1#:~:text=El%20tomate%20(Lycopersicon%20esculetum%20mill)%20es%20una%20planta%20originaria%20de,y%20abunda)
- Díaz Ortiz, J. E. (2005). Propuesta metabólica para determinar el potencial de humedad de un material granular a partir de la humedad relativa. *Ingeniería y Competitividad*, 7(1), 73-79. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/2913/291323470007.pdf>
- Elsacker, E., Laet, L., & Peters, E. (2022). Functional Grading of Mycelium Materials with Inorganic Particles: The Effect of Nanoclay on the Biological, Chemical and Mechanical Properties. *Biomimetics*, 7, 57.
- FAO. (2013). FAOSTAT. Obtenido de <https://www.notion.so/FAOSTAT-b316220509a74d5f9179df82455e8372>

- Gan, J., Soh, E., Saeidi, N., Javadian, A., Hebel, D., & Ferrand, H. (2022). Temporal characterization of biocycles of mycelium-bound composites made from bamboo and *Pleurotus ostreatus* for indoor usage. *Scientific Reports*, 17, 10262.
- González, A. (2000). Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol. 50(3), 281-285.
- Hall, C., Hilten, C., & Garden-Robinson, J. (2017). Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. *Cereal Chemistry*, 11-31.
- Hawlder M, N. A., Uddin M, S., Ho J, C., & Teng A, B. (21 de November de 1990). Drying characteristics of tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 14(4), 259-268. doi:10.1016/0260-8774(91)90017-M
- Herrera Covarrubias, D., Fernández Pomares, C., Aranda Abreu, G. E., Domínguez Ortiz, M. Á., & Hernández Aguila, M. E. (2007). El licopeneo y su papel en la prevención del cáncer de próstata. *Neurobiología*. Obtenido de <https://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2013/8/Herrera/HTML.html>
- InfoAgro. (18 de Diciembre de 2019). Importancia económica del tomate en México. Obtenido de Toda la Agricultura, ahora en sus manos: <https://mexico.infoagro.com/importancia-economica-del-tomate-en-mexico/>
- Ironika. (2016). El origen del tomate, su distribución y descubrimiento. Obtenido de <https://tomatecanario.es/origen-del-tomate/>
- Long, J. (1995). De Tomates y Jitomates en el siglo XVI. (É. D. García, Ed.) *Estudios de cultura Náhuatl* (25), 239-252. Obtenido de <https://nahuatl.historicas.unam.mx/index.php/ecn/issue/view/5834>
- Mahan, L., Foster, L., & Dahl, W. (10 de Marzo de 2023). IFAS Extension. Obtenido de University of Florida: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FS240>
- Manivel Chávez, R. A. (2011). Determinación de la cantidad de licopeneo y firmeza mediante el uso de pruebas no destructivas para evaluar el proceso de maduración en fruto de jitomate (*Lycopersicon Esculentum*) variedad Saladette. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán. Obtenido de http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1993/FQFB-M-2011-0022.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Martínez, A., Rodríguez, M. E., York, S. W., Preston, J. F., & Ingram, L. O. (2000). Use of UV absorbance to monitor furans in dilute acid hydrolysates of biomass. *Biotechnol*, 16, 637-641.
- Ochoa Reyes, E., Ornelas Paz, J. J., Ruiz Cruz, S., Ibarra Junquera, V., Pérez Martínez, J., Guevara Arauza, J. C., & N, A. C. (2013). Tecnologías de deshidratación para la preservación de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill). *Ciencias Biológicas y de la Salud*, XV(2), 39-46.
- Ordóñez, A. L., Balanza, M. E., Martín, F. R., & Flores, C. A. (2009). Estabilidad del carotenoide licopeneo en tomates en conserva. *SciELO Alimentos y Biotecnología*, 20(4), 31-37. doi:10.1612/inf.tecnol.4126it.08
- Perdomo, F., Cabrera Fránquiz, F., Cabrera, J., & Serra-Majem, L. (2010). Influencia del procedimiento culinario sobre la biodisponibilidad. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 152-1246. doi:10.3305/nh.2012.27.5.5908
- Porporatto, M. (s.f.). Importancias. (eozic, Editor) Obtenido de <https://importancias.com/tomate/>
- Rakjumar, P., Kulanthaisami, S., Raghavan, G. S., Gariépy, Y., & Orsat, V. (2007). Drying Kinetics of Tomato Slices in Vacuum Assisted Solar and Open Sun. (L. Taylor & Francis Group, Ed.) *Drying Technology*, 25(7), 1349-1357. doi:10.1080/07373930701438931
- SADER. (22 de Marzo de 2022). El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-jitomate-hortaliza-mexicana-de-importancia-mundial?idiom=es>
- Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990). apid Extraction of Lycopene and B-Carotene from Reconstituted Tomato Paste and Pink Grapefruit Homogenates. *Journal of Food Science*, 55(5), 637-641.
- Sáenz-Reyes, J. T., Muñoz-Flores, H. J., Ruiz-Rivas, M., Rueda-Sánchez, A., Castillo-Quiróz, D., & Castillo-Reyes, F. (2022). Diagnóstico del cultivo de lenteja en unidades de producción familiar en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 35-44.

- SAGARPA. (2017). Jitomate Mexicano. Secretaría de Agricultura. Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>
- SIAP. (07 de Octubre de 2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- SIAP. (2021). SAGARPA. Obtenido de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Soh, E., & Ferrand, H. (2022). Woodpile structural designs to increase the stiffness of mycelium-bound composites. *Materials and Design*, 225: 111530. doi:10.1016/j.matdes.2022.111530
- Taghi-Gharibzahedi, S. M., Mousavi, S. M., Mahdi-Jafari, S., & Faraji, K. (2012). PROXIMATE COMPOSITION, MINERAL CONTENT, AND FATTY ACIDS. *Chemistry of Natural Compounds*, 976-978.
- Tilahun, S. P. (30 de April de 2017). Effect of ripening conditions on the physicochemical and antioxidant properties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Food science and biotechnology*, 26, 476-479. doi:<https://doi.org/10.1007/s10068-017-0065-7>
- Trujillo Hernández, C. A. (2011). Determinación de la fracción indigerible y fibra dietética en frutas y verduras de mayor consumo en México. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec, Moleros. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/13340/Tesis%202011%20Cesar%20Arnulfo%20Trujillo%20Hernández.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Udahogora, M. (2012). Health benefits and bioactive, compounds in field peas, faba beans, and chickpeas. *Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits*, 199-215.
- Worawoot, A., Athip, C., Jaturong, K., Kritsana, J., Sirasit, S., Tanut, W., . . . Nakarin, S. (2022). Amazing Fungi for Eco-Friendly Composite Materials: A Comprehensive Review. *Journal fungi for eco-friendly composite materials: a comprehensive review*, 8-842. doi:<https://doi.org/10.3390/jof8080842>
- Yang, L. D. (2021). Material function of the mycelium-based biocomposite: a review. *Frontiers*, 8, 737377. doi:doi:10.3389/fmats.2021.737377
- Yang, L., Park, D., & Zhao, Q. (2021). Material Function of Mycelium-Based Bio-Composite: A Review. *Frontiers in materials*, 8, 737377. doi:<https://doi.org/10.3389/fmats.2021.737377>
- Yara. (2023). Producción mundial de tomates. Obtenido de *Nutrición vegetal: Tomate*: <https://www.yara.com.mx/nutricion-vegetal/tomate/produccion-mundial-de-tomates/>

EROVULACIÓN EN HÁMSTER SIRIO DORADO CON SUERO DE YEGUA ALMACENADO POR 3 AÑOS

Ena Monserrat Boone Tapia, Aleksandra Monserrat Alarcón Evtoukh, María del Carmen Navarro Maldonado, Raymundo Rangel Santos, Demetrio Alonso Ambriz García

¹Licenciatura en Biología Experimental, UAM-Iztapalapa ²Laboratorio de Reproducción Animal Asistida, Departamento de Biología de la Reproducción, UAM-Iztapalapa ³Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

La superovulación es una técnica de estimulación ovárica para aumentar el número de ovocitos de un ciclo reproductivo a través de la administración hormonal. Una de las hormonas que se utilizan en esta técnica es la gonadotropina coriónica equina (eCG), glicoproteína que está presente en el suero de yeguas en gestación. La actividad de la eCG es similar a la de las hormonas FSH y LH, sin embargo, su utilización se ve dificultada por los costos y trámites de importación. A partir de ello, se estudia la aplicación de la eCG anteriormente llamada gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG, por sus siglas en inglés), para estimular hembras de interés productivo o de investigación. El presente trabajo analizó el efecto de la estimulación ovárica con PMSG que había sido criopreservada por 3 años a -20°C . La PMSG fue obtenida a partir del suero de una yegua de 75 días de gestación, se inactivó y se congeló a -20°C hasta su uso. Se utilizaron 8 hembras hámster sirio dorado de 3 meses de edad, 120g de peso promedio y ciclos estrales regulares (4 días), mantenidas en condiciones estándar de bioterio con un fotoperiodo de 14h luz/10h oscuridad. Un grupo de 4 hembras (GE) fueron superovuladas con 1mL de PMSG intraperitoneal el día del estro. Al grupo control (GC, N= 4 hembras) se les aplicó agua intraperitoneal. A las 120 h de la inyección, se colectaron los ovocitos de los oviductos de las hembras de ambos grupos, con 0.5 mL de DPBS. Se determinó el número promedio de ovocitos colectados y los correspondientes cuerpos lúteos (CL) en los ovarios. Los resultados se evaluaron estadísticamente con la prueba t-Student ($p < 0.05$) observándose que, el número promedio ($\pm \text{DE}$) de ovocitos colectados en el GC fue menor al del GE (8 ± 2 vs. 39 ± 17 , respectivamente; $p = 0.017$). Lo mismo ocurrió para el número promedio ($\pm \text{DE}$) de CL presentes en los ovarios, que en el GC fue inferior al del GE (10 ± 2 vs. 46 ± 9 , respectivamente; $p = 0.013$). Se concluye que la estimulación con PMSG congelado por 3 años a temperatura de -20°C fue efectiva en el hámster al favorecer la superovulación, con 4 veces más ovocitos por hembra.

INTRODUCCIÓN

En diferentes momentos y temáticas de la ciencia, un conocimiento alterno o quizá uno no esperado, de pronto resulta de mucho mayor interés y trascendencia que el planteado en el objetivo de la investigación. Así la aplicación de vacunas preparadas en equinos (específicamente en yeguas gestantes) provocó la aparición en hembras de diferentes especies animales (o incluso en mujeres) que las recibían, de un efecto postvacunal con estimulación ovárica (super ovulación). Al principio se pensó en un mecanismo desconocido o azaroso, posteriormente se verificó que era “algo” que acompañaba a la vacuna y al suero de la yegua, donde se elaboraba el biológico. Poco a poco y con la participación de diferentes especialistas, se alcanzó a dilucidar que estaba relacionado con las altas concentraciones de FSH y LH que la yegua produce en un periodo determinado de su gestación para auto inducir ovulación y con ello la formación de más Cuerpo Lúteos alternos, proveedores de altas concentraciones de progesterona, vitales para el soporte de la gestación, es

por ello que el nombre descrito para este suero rebosante de gonadotrofinas fue de Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG o Gonadotrofina Sérica de Yegua Gestante).

Al principio de su aplicación en animales, se prefirió utilizarla así, al natural, solo colectando el suero de las yeguas en cuestión e inactivándolo. Este último, es un proceso donde el suero se somete a baño María a 60°C durante 30 o 40 minutos, para la inactivación del sistema del complemento. Posteriormente la PMSG podría ser utilizada en diferentes hembras o protocolos específicos para inducir la súper activación ovárica. La industria farmacéutica pronto tomó el liderazgo y control de este hallazgo, que en el sentido comercial habría que pagar a laboratorios internacionales, los cuales fijaban el precio. Con las mejoras en otras áreas del conocimiento, aunados a algunas restricciones de bienestar animal europeas, para continuar con el método de obtención del suero de yeguas, se dio paso a la producción de PMSG (ahora Gonadotrofina Coriónica Equina, eCG) recombinante, utilizando para ello cultivos bacterianos. Esto además conllevó aumentos constantes en el precio, así como de su disponibilidad.

Al igual que otras técnicas y diferentes campos requeridos de dicho insumo, de pronto aparece la pregunta ¿De vuelta a lo básico?, es decir a la obtención del suero de yegua gestantes, su inactivación y utilización.

TEORÍA

El suero es la parte líquida de la sangre de un animal, al que se le extraen las células sanguíneas y las proteínas coagulantes. Se encuentra compuesto por diferentes elementos, entre los que destacan el agua, albúmina, globulinas, lipoproteínas, aminoácidos, hormonas, iones y glucosa resultando en un color amarillento claro y con una densidad de 1.04 g/ml. Los usos de este líquido son diversos y van desde la inmunología, la reproducción, el análisis clínico, la microbiología, farmacología y otros (Fernández, 2018).

Específicamente el suero equino, se ha estudiado desde finales del siglo XIX en la rama de la inmunología, buscando la creación de vacunas para diversas enfermedades a partir de antitoxinas en países europeos. Además en dichas técnicas, se utilizaban sueros de otros animales domésticos como los borregos y las cabras, sin embargo, el uso de yeguas era preferente, debido al tamaño del animal y el volumen sanguíneo que éste presenta, así como la resistencia de la especie a los diversos procedimientos a los que era sometida (Yanes, 2020). Los primeros experimentos con el suero equino se realizaron a principios de 1900, con el consecuente revuelo bioético de la época y bajas en algunos ejemplares durante el proceso de estandarización. Es hasta 1930, que dicho suero se le confiere interés por su efecto en la reproducción de otras especies, y se caracteriza por primera vez la PMSG (Yanes, 2020).

La eCG (gonadotropina coriónica equina), es una hormona glicoproteica producida en las copas endometriales de las yeguas preñadas. Se conoce que al administrarla a especies ajenas a la yegua logra una actividad similar a la de las hormonas LH (luteinizante) y FSH (foliculoestimulante), teniendo en consecuencia afinidad por los receptores ováricos (Renis y López, 2014). Las copas endometriales donde se produce, son un derivado fetal compuesto por células trofoblásticas que se originan en el cinturón coriónico (membrana externa embrionaria que dará origen a la placenta).

La gestación en yeguas dura entre 315 y 345 días. El diagnóstico de preñez se puede realizar entre los días 9 y 12 post ovulación. La vesícula embrionaria tiene un crecimiento mayor durante los primeros 18 días y cambia constantemente de posición dentro del útero hasta implantarse entre los días 13 y 19 post ovulación en la base de alguno de los cuernos uterinos y esto sucede gracias al proceso conocido como placentación. La viabilidad embrionaria puede asegurarse entre los días 21 y 26 post ovulación con el indicador del latido cardiaco del embrión (Paredes, et al., 2012). Las copas endometriales se forman entre los días 35 y 40 después de la concepción y su máxima capacidad

de producción hormonal se encuentra entre los 60 y 75 días, siendo indetectable a los 80 días. En la yegua esta hormona solo tiene actividad similar a la de la LH llevando al desarrollo de cuerpos lúteos accesorios que contribuyen a un aporte extra de progesterona para mantener adecuadamente la gestación (Paredes, et al., 2012).

Su efecto es específico en receptores de la granulosa y de la teca, estimulando la secreción de estradiol y progesterona. La PMSG estimula el desarrollo de folículos grandes y medianos e induce la ovulación, teniendo un efecto dosis dependiente (a mayor cantidad administrada, mayor efecto). Se ha observado que al aumentar el tamaño del folículo preovulatorio, el cuerpo lúteo que se desarrolla posteriormente es de mayor tamaño, produciéndose una mayor concentración de progesterona (Renis y López, 2014). Debido a estas propiedades es que se utiliza la PMSG en técnicas de estimulación ovárica como la superovulación, es una técnica que consiste en la inducción de múltiples ovulaciones gracias a la aplicación de hormonas gonadotropinas, con el objetivo de aumentar el número de folículos ovulatorios (Contexto ganadero, 2016).

La actividad similar a las gonadotropinas LH y FSH, así como el aumento de progesterona y estradiol resulta fundamental debido a que participan en el ciclo estral de la hembra. Este ciclo estral o ciclo reproductivo es un conjunto de acontecimientos fisiológicos que regulan periódicamente la receptividad femenina en el ovario. Consta de cuatro fases: proestro, se lleva a cabo el crecimiento de los folículos preovulatorios y los niveles de progesterona son muy bajos, mientras que los andrógenos empiezan a convertirse en estrógenos; esto, aumentan los niveles de estrógeno y se propician los signos del celo; metaestro, la actividad de la progesterona induce el desarrollo inicial del cuerpo lúteo y en el diestro (Guáqueta, 2009). La progesterona actúa específicamente en el metaestro con el desarrollo inicial del cuerpo lúteo, mientras que en el diestro aumenta regulando la actividad del cuerpo lúteo y posteriormente produciendo la luteolisis. Hay que recordar que el cuerpo lúteo se forma a partir del folículo de Graaf y cuando el ovocito sale del folículo después de la ovulación gracias a la actividad hormonal (Guáqueta, 2009).

Por otro lado, el hámster Sirio dorado es un pequeño mamífero perteneciente al orden de los Rodentia, específicamente a la familia *Cricetidae*. Procede de Asia menor y su nombre en árabe significa "señor de las alforjas", debido a la notable cantidad de espacio de almacenamiento en las bolsas de sus mejillas, llamados abazones (Musser y Carleton, 2005). Este animal ha sido introducido a los bioterios para facilitar el estudio de diferentes aspectos biológicos de forma sencilla y económica en comparación con otras especies, destacando los reproductivos, debido a que cuenta con características específicas para obtener información relevante en este campo (Navarro et al., 2000), por ejemplo, el ciclo estral se presenta cada cuatro días de forma regular y puede observarse con extrema facilidad, debido a una secreción blanquecina en sus genitales denominada secreción vaginal post ovulatoria (SVPO); por otro lado, su gestación es corta de tan solo 16 días, dando a luz un número de crías de entre 10 a 12 por camada. Ese mismo número de ovocitos y cuerpos lúteos se reportan naturalmente en cada ciclo reproductivo (Navarro et al., 2000).

El trabajo experimental presente sugiere que el suero de yegua gestante puede conservar sus propiedades de actividad hormonal, a pesar de ser sometido a un almacenamiento prolongado en condiciones de refrigeración, dichas propiedades hormonales permitirán la super ovulación de hembras hámster al ser administrado intra peritonealmente. La super ovulación con este tipo de suero resulta importante, debido a que se aumenta considerablemente la producción y obtención de ovocitos por ciclo reproductivo de forma natural, de modo que se reduce la cantidad de individuos experimentales, los sacrificios y otro tipo de recursos materiales, por otro lado, los ovocitos obtenidos a través de este procedimiento tendrían diferentes aplicaciones en técnicas biotecnológicas de reproducción animal asistida como por ejemplo en fertilización *in vitro* o clonación.

PARTE EXPERIMENTAL

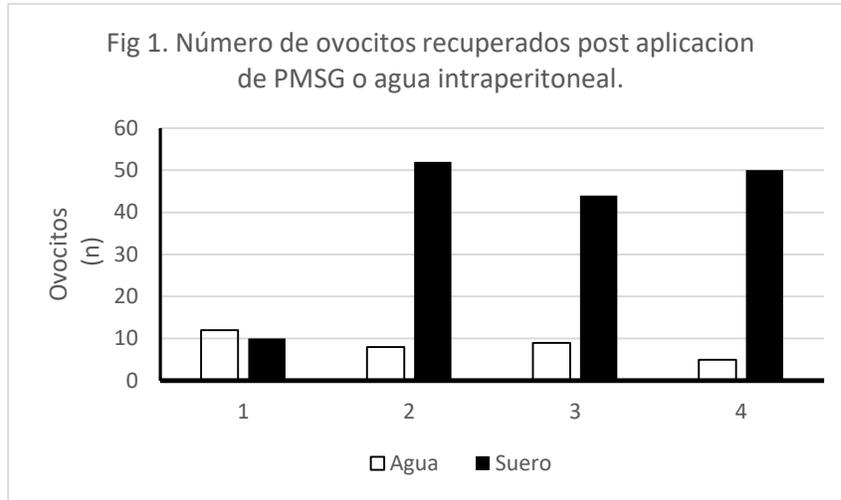
Se seleccionaron 8 hembras jóvenes de hámster Sirio dorado en condiciones saludables. Se alojaron en cajas de acrílico, con cama de viruta (con cambio cada 4 días) y se mantuvieron dentro del bioterio con una temperatura promedio de 26°C, con fotoperiodo de 14 horas de luz por 10 de oscuridad, alimento y agua fresca a libre acceso. En estas condiciones controladas se realizó el seguimiento de su ciclo reproductivo (estral), monitoreando diariamente el estro, es decir, la presencia de la secreción vaginal post ovulatoria (SVPO), que es una secreción blanquecina fácilmente visible en el orificio genital de la hembra al presionar la zona abdominal.

El monitoreo de al menos 3 ciclos regulares permite dar paso a la inducción de la super ovulación, a través de la hormona gonadotropina PMSG previamente alicuotada y almacenada durante 3 años a -20 °C. Se administró, a un grupo (experimental), con jeringa estéril, 1ml por vía intraperitoneal al momento de presentar SVPO, en tanto que otro grupo (control) solo recibió agua. Las hembras se sacrificaron alrededor de 120 horas (5 días), después de la inyección, a través de la técnica de dislocación cervical para la posterior obtención de sus ovocitos. Las hembras se colocaron en decúbito dorsal para realizar un corte en la línea media ventral con tijeras a 4 cm por arriba del área genital. La incisión abarcó piel y músculo. Se diseccionó el aparato reproductor: ovarios y oviductos retirando grasa (utilizando tijeras y pinzas de disección).

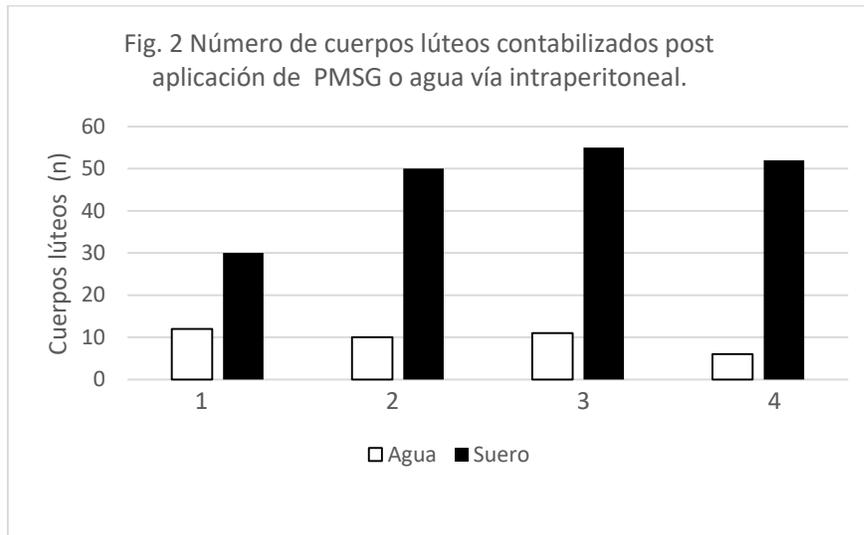
Los ovarios y oviductos obtenidos se lavaron con solución salina (PBS), se secaron con papel higiénico y se separaron en cajas de cultivo de cuatro pozos. Bajo el microscopio estereoscópico se retiró la bolsa ovárica (con pinzas de relojero y tijeras de disección) para permitir la perfusión oviductal. Dicha perfusión se realizó para cada oviducto localizando el *ostium* y perfundiendo 50 microlitros de PBS a través de una jeringa de insulina con aguja sin bisel, e intervenida para formar un ángulo de 90° en su punta. Se recuperó la solución obtenida de la perfusión y en el microscopio óptico invertido se localizaron y contabilizaron los ovocitos. Dicho conteo debe ser coincidente al de los cuerpos lúteos presentes en los ovarios vistos bajo microscopio de disección. Por último, se realizó un análisis estadístico a través de la prueba t-Student ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Se cuantificó la cantidad de ovocitos en el grupo de hembras a las que se les administró PMSG así como a las hembras que se les administró solo agua. Los resultados evaluados estadísticamente a través de la prueba t-Student ($p < 0.05$) reflejaron que el número promedio (\pm DE) de ovocitos colectados en el grupo control ($n=4$), fue menor al del grupo experimental ($n=4$) (8 ± 2 vs. 39 ± 17 , respectivamente; $p=0.017$, Figura 1). Sin embargo en una de las hembras estimuladas con PMSG no se obtuvo el resultado esperado, lo cual se piensa pudo haberse atribuido en un error en la aplicación intraperitoneal o en la perfusión oviductal para la recuperación de los ovocitos y su visualización. En las demás hembras (3) la respuesta estimuladora de la PMSG es evidente.



En cuanto al número de cuerpos lúteos registrados en los ovarios de ambos grupos de hembras hámster, fue evidente que el promedio del grupo control fue menor con respecto al grupo experimental (10 ± 2 vs. 46 ± 9 , respectivamente; $p=0.013$, Figura 2).



Además, se aprecia que en el primer par de hembras, se tuvo una mejor respuesta en la formación de CL con la PMSG que con el agua, casi con el doble del número de CL. Esto confirma que la PMSG estimula la acción ovárica, sin embargo al no ser de la magnitud de las otras hembras (de la 2 a la 4), es posible que hubo un error en la aplicación intraperitoneal, además que no se recuperaron los ovocitos oviductales, por lo que en la Figura 1, no se apreció esta estimulación en el primer par de hembras. A pesar de ello, en la mayoría de las hembras la respuesta estimuladora, confirma que la actividad de la PMSG almacenada a -20°C durante tres años, se mantiene y puede ser utilizada de manera confiable para obtener una respuesta superovulatoria satisfactoria. La visualización y en consecuencia el registro de los ovocitos es altamente confiable, especialmente si se utiliza el microscopio invertido como puede verse en la Figura 3. Además se confirma la estimulación de los receptores de FSH y LH inducida por la PMSG para formar CL (Figura 4) es decir un efecto intraespecies. Cabe mencionar que la PMSG es utilizada en diferentes especies animales

tanto de producción (bovinos, ovinos, caprinos, cerdos y conejos) como de investigación (ratas, ratones, cuyos, gerbos y conejos).

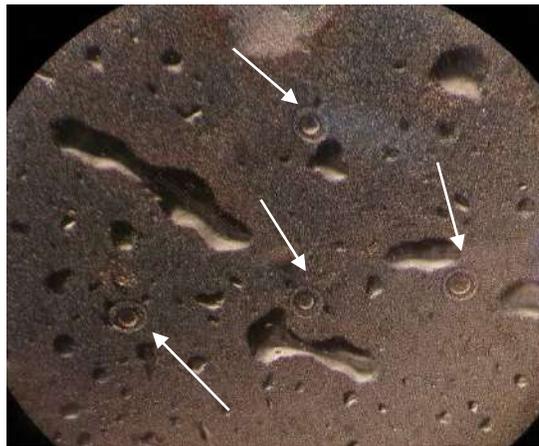


Figura 3: Ovocitos (flechas) obtenidos tras la superovulación en hembras hámster observados en microscopio invertido a 10x. Se aprecia claramente la zona pelúcida y el primer cuerpo polar, indicativo del estado de maduración ovocitaria.

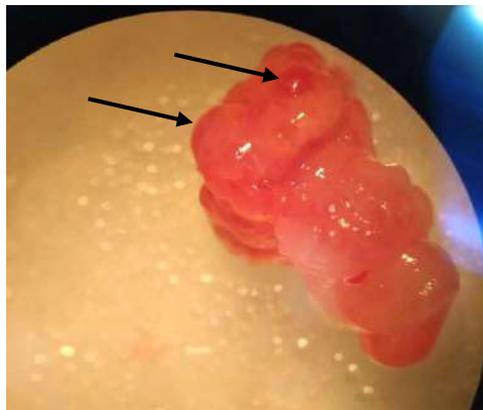


Figura 4: Ovario de hámster visto en microscopio estereoscópico (10X). Se observa la estimulación ovárica provocada por la administración de PMSG. Cada cuerpo lúteo se aprecia como una esfera enrojecida en la parte superior del ovario (flechas).

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la eficacia del suero de yegua gestante (PMSG o eCG) sometido a un almacenamiento de 3 años a -20°C , mantiene sus propiedades, debido a que logra la estimulación ovárica en hámster Sirio dorado obteniendo 4 veces más la cantidad de ovocitos en el grupo de hembras en las que fue administrado dicho agente, en comparación con hembras que no lo recibieron.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Z. Fernández (2018). Diferencia entre suero y plasma. Diferenciador/salud. <https://www.diferenciador.com/diferencia-entre-suero-y-plasma/>.
2. Contexto Ganadero (2016). "Superovulación, un proceso para obtener más embriones bovinos". <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/superovulacion-un-proceso-para-obtener-mas-embriones-bovinos>.
3. F. Rensis, F. López-Gatius (2014). Use of Equine Chorionic Gonadotropin to Control Reproduction of the Dairy Cow: A Review. *Reprod Domest Anim*. doi: 10.1111/rda.12268
4. G.C Musser, M.D. Carleton (2005). "Superfamily Muroidea". En: Wilson, D.E.; Reeder, D.M (eds). *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference* (3a. ed.). Johns Hopkins University Press. p. 1044. ISBN 978-0-8018-8221-0.
5. H. Guáqueta, (2009). Ciclo estral: Fisiología básica y estrategias para mejorar la detección de celos. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, vol. 56, núm. III, pp. 163-183. <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639221003.pdf>
6. J. Yanes Javier. (2020) Los caballos que nos salvaron del ángel estrangulador.. Open mind BBVA. Biosciences. <https://www.bbvaopenmind.com/ciencia/biociencias/los-caballos-que-nos-salvaron-del-angel-estrangulador/>
7. Ma C. Navarro Maldonado, D. Ambriz García, E. Mundo Reyes, A. Trejo Córdova, O. Hernández Pérez, A. Rosado García (2000). "Desarrollo embrionario temprano en el hámster Sirio Dorado, *Mesocricetus auratus* (Mammalia: Rodentia)". *Acta Zoológica de México (NS)* 81:105-115 <https://doi.org/10.21829/azm.2000.81811>
8. M.P Paredes Higuera, C. Jiménez Escobar, A. Hernández Vásquez, (2012). Progesterona plasmática y algunas características uterinas y embrionarias en la gestación temprana de yeguas criollas colombianas. *Revista de Medicina Veterinaria*, (24),123-136.
9. Science Direct. (2010). Perfusión. *Encyclopedia of Movement Disorders*. <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/perfusion>

DERIVA DE FIBROBLASTOS DE PIEL DE BOVINOS ÉLITE POR DIVERSOS MÉTODOS PARA BANCO DE GERMOPLASMA

Iván Aguilar Chávez¹, Salvador Romo García², Nelson Manzanares³, José Roberto Vázquez Avendaño⁴, Alfredo Trejo Córdova⁵, Demetrio Alonso Ambriz García⁵ y María del Carmen Navarro Maldonado⁵

¹Maestría en Biología de la Reproducción Animal, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, ²FES-Cuautitlán Universidad Nacional Autónoma de México, ³Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ⁴Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, ⁵Departamento de Biología de la Reproducción, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

carmenavarrro2006@yahoo.com.mx

RESUMEN

La necesidad de conservar material biológico de especies productivas y de aquellas en riesgo de extinción, hace de los bancos de germoplasma una opción necesaria. Anteriormente, estos estaban limitados a incorporar células germinales (ovocitos y espermatozoides) y embriones. Actualmente es posible formar estos bancos con tejidos de órganos como la piel y células somáticas derivadas de ésta, que luego puedan utilizarse en la producción de embriones mediante la transferencia nuclear de células somáticas o clonación. Los fibroblastos han sido ampliamente utilizados para este propósito. Por lo que el objetivo del presente estudio fue derivar fibroblastos de piel de bovinos de razas élite por diferentes métodos, para formar un banco de germoplasma de estas células que puedan utilizarse en la clonación. Se tomaron biopsias de 0.5 cm² de piel de oreja de bovinos de razas Angus, Holstein, Simbrah, Tuli y Simmental, provenientes de la FES-Cuautitlán UNAM y de la UANL. Las biopsias se desinfectaron y unas se sembraron como explantes de 1mm² en cajas Petri conteniendo DMEM con 20% de SFB (método mecánico). Otras se sometieron a digestión enzimática con colagenasas I y II durante hora y media a 38°C (método enzimático). Otras más se trabajaron como explantes que luego se sometieron a digestión enzimática (método mixto). El paquete celular obtenido se resuspendió en DMEM con 20% de SFB y se sembró en cajas Petri con el mismo medio. Las cajas se incubaron a 38.5°C, 5% de CO₂ y humedad a saturación, hasta lograr la confluencia. En todos los tratamientos se derivaron células que corresponden a fibroblastos. Éstos se sometieron a 4 pasajes celulares congelando la mitad de la población de cada pasaje a -196°C. Se observaron diferencias en cuanto a la población celular, los tiempos de crecimiento y de confluencia celular; siendo más eficiente el método enzimático, seguido del mixto y del mecánico ($p > 0.05$). Sin embargo, los tres métodos permitieron obtener fibroblastos y formar un banco de germoplasma.

INTRODUCCIÓN

Ante la posibilidad de pérdidas de los recursos zoogenéticos, surge la necesidad de disponer de material genético “ex situ” e “in vitro”, conservado en bancos de germoplasma y cuya finalidad es la colección de material genético (espermatozoides, ovocitos, embriones, células somáticas), para evitar que se afecten los sistemas de producción pecuaria y se reduzcan las poblaciones silvestres.

En la producción ganadera, la conservación de material genético perteneciente a razas puras y/o autóctonas, puede resultar en futuras soluciones de investigación biológica, teniendo en cuenta que

la pureza racial sirve para asegurar un nivel de uniformidad genética de la población. A esto se le ha denominado conservación de los recursos zoogenéticos.

Bajo este concepto, con la finalidad de obtener resultados benéficos para la conservación y preservación de las especies se han desarrollado biotecnologías de la reproducción animal asistida, como la Transferencia Nuclear de Células Somáticas (TNCS). En ella, una célula somática es transferida en un ovocito enucleado y fusionada con él mediante impulsos eléctricos, el embrión resultante será una réplica genética de la especie que se desea reproducir (Galli et al., 2021).

Ante la necesidad de rescatar genéticamente las poblaciones animales, en 1999 Dominko et al., realizaron la transferencia nuclear de células somáticas interespecie (TNCSI), en el que tomaron células somáticas de mono, borrego, cerdo, conejo y rata, para fusionarlas con ovocitos enucleados de vaca. Ésta es una potencial herramienta para el rescate de especies tanto domésticas como silvestres en peligro de extinción. En esencia, consiste en tomar una célula somática de la especie que se desea clonar, introduciéndola en un ovocito enucleado de una especie de diferente orden e, incluso, taxón (Mrowiec et al., 2021).

Por lo que el objetivo de este trabajo fue probar diferentes métodos para derivar células de piel de bovinos élite de diferentes razas, y formar con ellas un banco de recursos genéticos como fuente de carioplastos para la clonación de bovinos en programas posteriores de producción *in vitro* de embriones.

TEORÍA

Los fibroblastos son el tipo celular más abundante del tejido conectivo, pueden aislarse a partir de tejidos corporales como la pulpa dental y ligamento periodontal, y a partir de órganos como: hígado, páncreas, músculo y tejido epitelial (piel) (Sriram et al., 2015).

Con los fibroblastos se han generado exitosamente embriones y nuevos individuos mediante la TNCS (Cortez et al., 2021).

Para su deriva en cultivos primarios, se han probado diferentes métodos como son los explantes, la disgregación enzimática o la combinación de ambos. Una vez derivadas, las células somáticas podrán incorporarse a los bancos de germoplasma por un tiempo indefinido hasta su uso.

Por otro lado, la crioconservación de células es de importancia para generar bancos de recursos genéticos (bancos de germoplasma), como medida de conservación de células y gametos de importancia genética. Así se contará con la infraestructura adecuada para identificar y adquirir germoplasma de las principales razas de ganado. Estos programas se llevan a cabo en diversos países, aunque presentan ciertas limitantes, debido a la falta de asociaciones de razas, escasas bases de datos que incluyan datos genotípicos y fenotípicos, además de que requieren de protocolos óptimos para la recolección de muestras en campo para los diversos tipos de germoplasma (Purdy et al., 2016).

La crioconservación está basada en la correcta y adecuada aplicación de protocolos de congelación del material biológico, con la finalidad de asegurar la viabilidad y funcionalidad celular a bajas temperaturas. Este proceso debe procurar inducir un menor número de variaciones extremas en las propiedades químicas, térmicas y eléctricas que pudieran alterar las membranas celulares, los organelos y la interacción célula-célula inherente en las células y tejidos a crioconservar (Ávila-Portillo et al., 2006; Aydogdu et al., 2021).

PARTE EXPERIMENTAL

Biopsias de tejido auricular de bovino

Se obtuvieron biopsias de piel de oreja de bovinos (*Bos taurus* y *Bos indicus*), de ejemplares vivos pertenecientes a la FES Cuautitlán de la UNAM (razas Angus de 5 años y Holstein de 1 año, ambas hembras) y ejemplares pertenecientes al Centro de Investigación en Producción Animal (CIPA) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (razas Simbrah de 5 años y Tuli de 1 año, hembras, además de un ejemplar macho de raza Simmental de 6 años).

De cada ejemplar se rasuró un área de 1 cm² de la parte posterior de la oreja, se lavó con una solución de clorhexidina al 2% y desinfectó con alcohol al 70% por 3 minutos. Mediante un “punch” (dispositivo para la obtención de biopsias), se efectuó una muesca y la biopsia de 0.3 cm² se colocó en un tubo Falcon de 15 mL con solución de transporte refrigerada para su traslado al laboratorio (Tovar et al., 2008; Navarro-Maldonado et al., 2015).

Deriva de fibroblastos de piel en cultivos primarios

Se evaluaron 3 tratamientos para la deriva celular: 1. Por disgregación mecánica, 2. Por disgregación enzimática y 3. Por combinación de ambas (mecánica- enzimática M-E).

Para la disgregación mecánica, la biopsia se fragmentó utilizando un bisturí (explantes), sembrados de esta forma para su adherencia a la caja de Petri en medio de cultivo para la deriva celular. Para la disgregación enzimática, el tejido se fragmentó de la misma forma ya descrita y posteriormente se colocó en un tubo Falcón con Colagenasas tipo I y II 0.02% y se incubó 2 a 3 horas a 38.5 °C en oscilación constante. La disgregación M-E, consistió en tomar el sobrenadante resultante de la disgregación enzimática y someterlo al procedimiento descrito para la disgregación mecánica. Las cajas que contuvieron los tejidos fueron adicionadas con 3 mL de medio de cultivo con 1ng/mL de EGF (Epidermal Growth Factor, por sus siglas en inglés) (Navarro-Maldonado et al., 2015).

Las muestras se mantuvieron en las condiciones señaladas hasta alcanzar la confluencia (población con más del 90% de células adheridas a la base de la caja de cultivo).

Una vez confluentes, las células fueron despegadas de su matriz extracelular y de la base de la caja de Petri utilizando 1mL de Tripsina-Verseno (0.05%/0.05%) por 8-10 minutos. Transcurrido este tiempo, se detuvo la acción de las enzimas adicionando 1mL de DPBS con 10% de SFB. Posteriormente se centrifugaron a 1800 rpm. El paquete celular fue resuspendido en 1 mL de DMEM suplementado, se sembró en una caja de Petri adicionando 2 mL de medio suplementado. Los pasajes celulares se efectuaron cada 7 -10 d, para lo cual se despegaron las células y se sembraron según los métodos ya descritos.

La población celular se dividió en dos, una fue sembrada para continuar con el proceso de cultivo celular de cada pasaje, durante 3 pasajes, y la otra mitad fue criopreservada a -196°C. Para ello, las células se despegaron de su matriz extracelular y de la base de la caja, y se evaluaron como ya fue descrito. Se colocaron en criotubos de 1.5 mL conteniendo medio de congelación a base de dimetilsulfóxido (DMSO 7%, SFB 15% en Medio Mínimo Esencial o DMEM, In Vitro, S.A.), el volumen celular se determinó al tomar muestras y hacer los conteos en la cámara de Neubauer con 10 µL de esta suspensión. Los criotubos fueron sometidos a congelación enfriandolos a 4 °C por 1 hora, a -80°C por 54 días y después a -196°C por 30-90 días hasta su uso (Navarro-Maldonado et al., 2015).

RESULTADOS

En los tres métodos de deriva celular evaluados fue posible derivar fibroblastos (Figura 1) en todas las razas. En el método enzimático se obtuvo más del doble de fibroblastos que con los otros dos métodos (mecánico y mixto) durante el primer pasaje, aunque sin diferencias significativas entre grupos (Tabla 1). Para el segundo pasaje, el método con mayor número de fibroblastos volvió a ser el enzimático, seguido del mixto y finalmente el mecánico, sin haber diferencias significativas entre métodos. Para el tercer pasaje el enzimático volvió a ser el método con mayor número de fibroblastos, sin haber diferencias significativas. La edad de los animales muestreados no mostró ser un factor determinante para el cultivo celular ni para que éstos logran la confluencia celular.

Figura 1. Imágenes comparativas de cultivos celulares. Literales en mayúsculas corresponden a fibroblastos de bovinos élite en cultivos. Literales en minúsculas, corresponden a fibroblastos reportados en la literatura. Aumento a 40X. (Takashima, 1998; Lin et al., 2009; Seluanov et al., 2010).

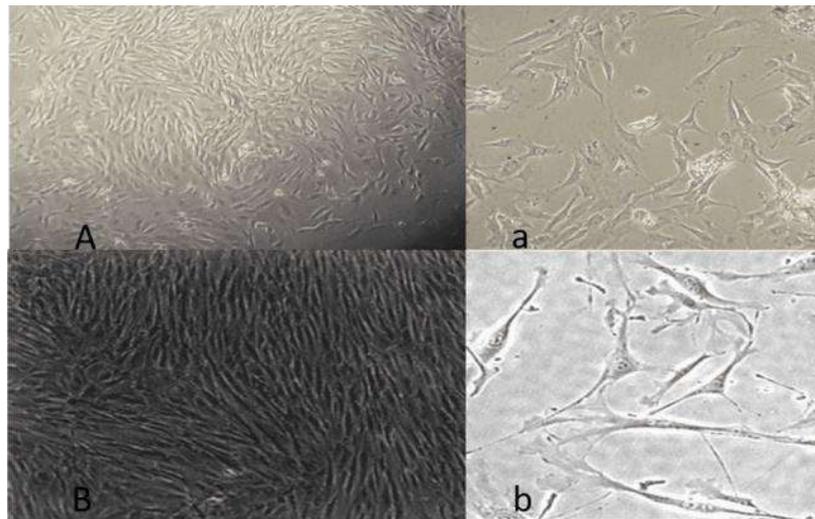


Tabla 1. Número de fibroblastos (promedio± EE) y pasajes celulares continuos, según los métodos utilizados para la deriva de fibroblastos (n=7).

Pasaje	Método empleado		
	Mecánico	Enzimático	Mecánico - Enzimático (Mixto)
1°	812,625 ± 83,478	2,160,400 ± 543,479	924,000 ± 386,917
2°	1,424,500 ± 479,199 ^a	2,927,320 ± 1,010,312	2,400,200 ± 299,137 ^a
3°	2,275,107 ± 859,909	2,647,125 ± 1,000,519	2,266,000 ± 856,447

CONCLUSIONES

Los programas de conservación de organismos vivos contemplan el resguardo de la información genética en bancos de germoplasma, de las especies de importancia económica y/o de especies cuyas poblaciones están en riesgo de desaparecer reproductivamente. Con ello se busca un incremento rápido en número de la diversidad genética, para el rescate de las especies (Navarro-Maldonado et al., 2015; Galli et al., 2021). Por lo que los bancos de germoplasma de células somáticas son una importante herramienta para la preservación de las especies.

Las técnicas evaluadas en este estudio permitieron la deriva de fibroblastos, así como los sucesivos pasajes celulares, independientemente de la raza, sexo, edad y lugar de procedencia de los ejemplares muestreados, demostrando su viabilidad. Tal y como señalan Takashima (1998) y Selokar et al. (2011), quienes reportaron la obtención de cultivos primarios de fibroblastos a partir de biopsias provenientes de orejas de individuos adultos en diferentes especies de mamíferos, incluyendo a los bovinos. Lo que pone de manifiesto que son técnicas adecuadas para la formación de bancos de germoplasma.

BIBLIOGRAFÍA

1. L. Ávila-Portillo, J. Madero, C. López, M. Acosta, C. Gómez, G. Delgado, C. Gómez (). "Fundamentos de criopreservación". Rev. Colomb. Obstet. Ginecol., Vol. 57, 4, 2006, pp. 291-300.
2. N. Aydogdu, O. Nehir, E. Karaoz. "Isolation, Culture, Cryopreservation, and Preparation of Skin-Derived Fibroblasts as a Final Cellular Product under Good Manufacturing Practice–Compliant Conditions". Methods in Molecular Biology Vol. 2286, 2021, pp. 85–94.
3. J. Cortez, T. Segura, L. Murga. "Impacto de la reprogramación celular (células de fibroblastos y cúmulos) en la producción de clones bovinos". Rev. Vet., Vol. 32, 2, 2021, pp. 216-220.
4. C. Galli, I. Lagutina, G. Crotti, S. Colleoni, P. Turini, N. Ponderato. "A cloned horse born to its dam twin". Nature 2003, pp. 424:635.
5. L. Lin, Y. Hua, M. Jianzhang, G. Wei-jun, M. Yue-hui. "Establishment and characterization of a fibroblast line from Simmental cattle". Cryobiol. Vol. 59, 2009, pp. 63–68.
6. P. Mrowiec, M. Bugno, W. Młodawska. "The perspective of the incompatible of nucleus and mitochondria in interspecies somatic cell nuclear transfer for endangered species". Reprod. Domest. Anim., 56, 2, 2021, pp. 199-207.
7. M. C. Navarro-Maldonado, S. Hernández, R. Vazquez, J. L. Martínez, L. Zavala, B. Vargas, A. Rivera, D. A. Ambríz-García. "Deriva de células epiteliales de tejido de piel descongelado de *Ovis canadensis mexicana* para la formación de un banco de germoplasma". Acta Zool. Mex. (N.S), Vol. 31, 2, 2015, pp. 275-282.
8. P. H. Purdy, C. S. Wilson, S. F. Spiller, H. D. Blackburn. "Biobanking genetic resources: challenges and implementation at the USDA National Animal Germplasm Program". Reprod. Fertil. Develop., Vol. 28, 2016, pp. 1072-1078.
9. N. Selokar, A. George, A. Saha, R. Sharma, M. Muzaffer, R. Shah, P. Palta, M. Chauhan, S. Manik, S. Singla. "Production of interspecies handmade cloned embryos by nuclear transfer of cattle, goat and rat fibroblasts to buffalo (*Bubalus bubalis*) oocytes". Anim. Reprod. Sci., Vol. 123, 2011, pp. 279–282.
10. A. Seluanov, A. Vaidya, V. Gorbunova. "Establishing primary adult fibroblast cultures from rodents". J. Vis. Exp., Vol. 44, 2010, pp. e2033.
11. G. Sriram, L. Bigliardi, M. Bigliardi. "Fibroblast heterogeneity and its implications for engineering organotypic skin models in vitro". Europ. J. Cell Biol., Vol. 94, 2015, pp. 483-512.

12. A. Takashima. Establishment of fibroblast cultures. *Curr. Proto. Cell Biol.* Vol. 2, 1, 1998, pp. 1–12.
13. H. Tovar, F. Navarrete, L. Rodríguez, O. Skewes, F. Castro. “Cold storage of biopsies from wild endangered native Chilean species in field conditions and subsequent isolation of primary culture cell lines”. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, Vol. 44, 8-9, 2008, pp. 309–320.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA DE COCCIÓN SOBRE EL CONTENIDO DE FIBRA DIETARIA DE DOS VARIEDADES DE LENTEJA (*LENS CULINARIS*)

Eder Noé Nambo Santiago¹, Karla Montes Rodríguez¹, Consuelo de Jesús Cortés Penagos², Berenice Yahuaca Juárez²

¹Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, ^{1,2}Laboratorio de Biotecnología M.C. Víctor Manuel Rodríguez Alcocer, Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tzintzuntzan 273 Col. Matamoros 58240, Morelia, Michoacán

1130587d@umich.mx.

RESUMEN

La lenteja es apreciada por ser un alimento sostenible y nutritivo, constituye una fuente considerable de carbohidratos, proteínas, fibra dietética y representa una importante opción en la dieta de familias de estratos socioeconómicos bajos. Estudios indican que las lentejas aportan un beneficio a la salud proporcionado particularmente por la fibra dietaria, en la actualidad se ha demostrado su efecto sobre patologías como el sobrepeso, obesidad, enfermedades cerebro-vasculares y del aparato digestivo. Es importante mencionar que el contenido de fibra dietaria y demás nutrientes puede diferir dependiendo de la variedad de lenteja que se trate y las condiciones que se utilicen para su procesamiento, específicamente la temperatura utilizada durante la cocción. Existen diversas variedades de lenteja, generalmente identificadas por su color, en México la variedad verde es la que se produce principalmente, siendo Michoacán el estado productor primordial, la lenteja roja es otra variedad que actualmente es de consumo cotidiano, esta legumbre se ha introducido mayoritariamente por importación. Expuesto lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la temperatura de cocción sobre el contenido de fibra dietaria total en dos variedades de lenteja. Material de estudio: lenteja (*Lens culinaris*) variedades verde y roja, las cuales fueron sometidas a un proceso de cocción, para la lenteja verde se utilizó una temperatura de 94°C por 20 minutos y la lenteja roja a 94°C por 10 minutos. Posteriormente se llevaron a deshidratación por 12 horas a 70°C, una vez deshidratadas fueron molidas a un tamaño de partícula de 0.25 mm en un molino Goldenwall®. El control consistió en lenteja cruda pulverizada. A los pulverizados de lenteja se les determinó el contenido de fibra dietaria total siguiendo un método enzimático gravimétrico, el cual se basan en digerir las proteínas e hidratos de carbono con tres enzimas, alfa amilasa, proteasa y amiloglucosidasa (marca Sigma-Aldrich®), el remanente se adjudica a la fibra dietaria previo descuento del contenido de cenizas y proteínas. Los resultados indicaron una disminución en el contenido de fibra dietaria, la variedad verde cruda contiene 12.03 % y posterior a realizar el proceso de cocción su contenido disminuyó a 6.86 %, en tanto que para la variedad roja cruda se tuvo un 9.60 % de fibra dietaria total y 2.40 % posterior a realizar la cocción. Considerando los resultados obtenidos se concluye que el efecto de la temperatura de cocción es un factor que influye en el contenido de fibra dietaria en las variedades de lenteja (*Lens culinaris*) verde y roja, destacando que la variedad verde es la que presenta un mayor contenido de fibra dietaria en comparación a la variedad roja.

INTRODUCCIÓN

En México históricamente y en la actualidad el cultivo de leguminosas es relevante, se cultiva en mayor medida frijol, haba, garbanzo y lenteja, la mayor superficie de cultivo es destinada al frijol (90.7 %), seguido de garbanzo (6.8 %), haba (2 %) y lenteja (0.5 %) (SIAP, 2020). Los principales estados

productores de garbanzo son Sinaloa (42 %), Sonora (23%), Jalisco (13 %) y Michoacán (9 %), el haba para grano, en Puebla (49 %), Veracruz (36 %) y Tlaxcala (9 %), la lenteja en Michoacán (90 %) y Guanajuato (10 %) (SIAP, 2020). El estado de Michoacán ocupa el primer lugar en producción de lenteja con cerca de 7 373 ha con una producción de 7 689 toneladas (Sáenz-Reyes, y otros, 2022).

Existen diferentes formas de consumir las legumbres, algunas de estas corresponden a aspectos tradicionales y culturales. Sin embargo, las legumbres son principalmente reconocidas por su contenido nutricional y los beneficios que proveen a la salud humana, siendo además de bajo costo, actualmente se promueve su consumo, particularmente en regiones donde la disponibilidad de alimentos es limitada (Hall, Hilen, & Garden-Robinson, 2017). Las legumbres son un alimento con relevantes características nutricionales; además de contener carbohidratos, tienen una alta concentración de proteínas y aminoácidos esenciales (lisina y leucina), son bajas en grasa y ricas en compuestos antioxidantes, minerales y fibra dietaria, la cual fluctúa entre 8 a 14 %, su contenido y tipo (soluble e insoluble) depende significativamente de la legumbre (Hall, Hilen, & Garden-Robinson, 2017). Estas propiedades nutrimentales son una herramienta significativa con lo que puede favorecerse la lucha contra la desnutrición, la mal nutrición, diabetes y enfermedades crónico-degenerativas. Es importante mencionar que el porcentaje de cada uno de los nutrientes que contienen las legumbres depende en gran medida de factores ambientales como el clima, origen geográfico, año de cosecha y métodos de cultivo, así como el tipo de legumbre y el cultivar (Taghi-Gharibzahedi, Mousavi, Mahdi-Jafari, & Faraji, 2012).

Existen distintas variedades de lentejas, marrones, verdes, rojas, amarillas y negras beluga, la variedad verde es la que se produce principalmente en Michoacán y la variedad roja se ha introducido en el mercado mexicano mayormente por importación. Las lentejas son apreciadas por sus cualidades nutricionales, aportan de un 15 % a 30 % de proteína vegetal, además de contener micronutrientes como calcio, hierro, magnesio, zinc, sodio, potasio, fósforo, selenio y vitaminas del grupo B. Contienen carbohidratos digeribles e indigeribles, lo cual permite que al ser consumida no se incrementen los niveles de glucosa en sangre, generando además una sensación de saciedad por más tiempo, otros componentes destacables son los fenólicos y polifenoles, los cuales ayudan a retrasar el envejecimiento celular y fibra dietaria, alrededor de 17g por cada 100 g, es importante mencionar que el aporte nutrimental depende de la variedad de lenteja que se trate. En referencia a la fibra dietaria (FD), se define como una sustancia de origen vegetal, la cual no puede ser digerida por las enzimas del tracto digestivo humano, se compone por polisacáridos estructurales de las plantas como celulosa, hemicelulosa, betacarotenos, pectina, mucílagos, gomas y lignina, siendo la estructura particular de cada uno de ellos la que determina las propiedades fisiológicas.

La fibra dietaria se clasifica comúnmente como soluble e insoluble; la fibra soluble se disuelve en agua y es capaz de formar un material gelatinoso, ayuda a reducir los niveles de glucosa y colesterol en sangre, se puede encontrar mayormente en avena, guisantes, frijol, manzana, zanahorias y cítricos, la fibra insoluble se encuentra en mayor proporción en trigo, salvado, frutos secos frijoles y lentejas, promueve la digestión y aumenta el volumen del bolo fecal, por lo cual se recomienda su consumo en personas que padecen de estreñimiento (Cabrera & Cárdenas, 2006). El consumo recomendado de fibra dietaria por día es de alrededor de 25 a 35 gramos, siendo importante de igual manera un consumo adecuado de agua para una función fisiológica correcta. Se recomienda su ingesta desde los primeros años de vida ya que a largo plazo ayuda a controlar factores de riesgo y

mejoran el estilo de vida (Álvarez & González, 2006). Es importante mencionar de igual manera los efectos adversos que puede provocar un consumo excesivo de FD, ya que su fermentación por parte de las bacterias anaerobias en el colon puede llegar a producir flatulencias, distensión y dolor abdominal, siendo recomendable que su consumo se realice de forma gradual para que el tracto gastrointestinal se adapte.

Las lentejas de manera tradicional suelen ser consumidas en forma de menestras, ello implica que la legumbre es sometida a un proceso hidrotérmico (cocción), generalmente a una temperatura de 94 °C por tiempos de 20 a 15 minutos para la variedad verde y de 15 a 10 minutos para la variedad roja, la cocción genera cambios en sus propiedades nutrimentales y tecno-funcionales, diversos estudios indican que el efecto térmico aplicado promueve el rompimiento de sus componentes, celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina y gomas, además de promover la interacción y formación de enlaces con proteínas y lípidos, con respecto a la FD de igual manera su estructura se ve modificada, promoviendo la interacción y formación de enlaces con proteínas y lípidos, volviendo a la FD más digerible y fácil de procesar (González, 2000).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la temperatura de cocción sobre el contenido de fibra dietaria total en dos variedades de lenteja.

PARTE EXPERIMENTAL

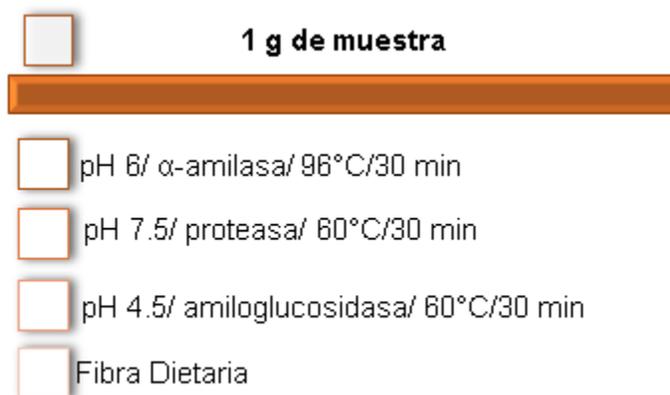
Material de estudio: Lenteja (*Lens culinaris*) de dos variedades (verde y roja), la variedad roja fue marca Lima Limón® y la variedad verde marca Verde Valle®. Ambas fueron adquiridas en un mercado local y llevadas al Laboratorio de Biotecnología "M.C. Víctor Manuel Rodríguez Alcocer" de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH hasta su uso.

Cocción de la legumbre. La lenteja cruda fue conducida a un proceso de cocción tradicional, para la lenteja verde se llevó a ebullición a 94°C durante 15 minutos, mientras que la lenteja roja se llevó a ebullición por 10 minutos a 94°C. Al término de la cocción se eliminó el agua de cocción por decantación. Posteriormente la lenteja cocida se deshidrató a 70°C por 12 horas. Finalmente, se realizó una reducción del tamaño de partícula a 0.25 mm (harina) en un molino eléctrico Goldelwall®. La muestra control consistió en lenteja cruda a la cual se le realizó una reducción del tamaño de partícula a 0.25 mm (harina) en un molino eléctrico Goldelwall®.

Determinación de fibra dietética. Para la determinación de fibra dietética en las harinas de lenteja verde y roja cruda y cocida, se siguió el método enzimático gravimétrico (AOAC, Métodos 985.29, 993.19 y 991.42). El cual se basa en digerir las proteínas e hidratos de carbono con tres enzimas: alfa amilasa, proteasa y amiloglucosidasa (marca Sigma-Aldrich®), el remanente se adjudicó a la fibra dietaria previo descuento del contenido de cenizas y proteínas remanentes (Figura 1).

Diseño y análisis estadístico. Lo anterior se sustentó con base en un diseño completamente al azar con 3 repeticiones, los datos fueron analizados con el paquete estadístico JMP6 y comparados mediante un análisis de varianza de una vía, las medias fueron comparadas con una prueba de Tukey con un nivel de significancia $P \leq 0.05$.

Figura 1. Proceso de digestión de muestra para determinación de fibra dietaria



RESULTADOS

En la tabla 1, se presentan los resultados obtenidos de fibra dietaria para la lenteja verde y roja crudas, previo a aplicar el tratamiento térmico (control). La lenteja de la variedad verde presenta un contenido significativamente mayor de fibra dietaria con respecto a la variedad roja (12.03 % y 4.6 % respectivamente), ello puede atribuirse a la fisiología de cada una de las variedades de lentejas, la lenteja verde posee una cubierta denominada cutícula en comparación a la lenteja roja, la cual carece de cutícula y se encuentra en forma dividida. El cotiledón contiene las principales sustancias de reserva, proteínas, carbohidratos y fibra, la testa actúa como barrera protectora del cotiledón y es donde se localizan la mayoría de los compuestos fenólicos, minerales, fibra y en menor cantidad proteína. Investigaciones realizadas indican que en el caso de la lenteja (*Lens culinaris*) el contenido de fibra dietaria total, está conformado mayormente por la fracción insoluble (90-80%) mientras que la fracción soluble es la que se encuentra en menor proporción (10.20 %) y posterior a la aplicación de algún tratamiento térmico no se han reportado cambio en contenido de las proporciones, siendo la fracción insoluble la que prevalece en mayor proporción en comparación a la fracción soluble (González, 2000).

Tabla 1. Determinación de Fibra Dietética en lenteja cruda, sin tratamiento térmico.

Fibra dietética	Contenido (%)
Lenteja verde (Cruda)	12.03±0.010a
Lenteja roja (Cruda)	4.6±0.027b

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). \pm = desviación estándar.

Los valores obtenidos se asemejan a los reportados por (Mahan, Foster, & Dahl, 2023), donde igualmente destacan a la lenteja por ser uno de los alimentos con mayor contenido de fibra, siendo superior a la contenida en haba, frijoles y otros guisantes, las cuales tienen alrededor de 7 g de fibra dietaria en una porción de 1/2 taza.

El contenido de FD en las harinas de lenteja verde y roja sometidas a cocción se muestra en la tabla 2. Los resultados indican una disminución en el contenido de fibra dietaria en ambas variedades de lenteja, verde y roja por efecto del proceso de cocción. Esta disminución fue de aproximadamente 50 % con respecto al control, siendo la lenteja verde la que presenta el mayor contenido de fibra dietaria con un 6.86 %, en comparación a la variedad roja 2.4 %.

Tabla 2. Determinación de Fibra Dietética en lenteja después del tratamiento térmico.

Fibra dietética	Contenido (%)
Lenteja verde (Cocida)	6.86±0.019a
Lenteja roja (Cocida)	2.4±0.003b

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). \pm = desviación estándar.

De acuerdo con las investigaciones realizadas por (González, 2000) temperaturas superiores a los 50 °C en la cocción tradicional de legumbres afectan el contenido de fibra dietaria, al provocar un daño irreversible en los gránulos de fibra. La cocción promueve el rompimiento de los componentes de la fibra, como la celulosa, hemicelulosa, lignina, entre otros, además de favorecer la interacción con otros compuestos como las proteínas y lípidos, modificándose así el contenido de FD total y de las fracciones que la conforman, fibra soluble e insoluble. Sin embargo, es importante mencionar que estos cambios favorecen su digestión, siendo más fácil de procesar, un ejemplo similar ocurre con las verduras, el sistema digestivo humano requerirá más energía para digerir aquellos alimentos que no hayan sido cocinados en comparación a aquellos alimentos que hayan recibido un algún tratamiento de cocción.

CONCLUSIÓN

Considerando los resultados obtenidos se concluye que, el aporte de fibra dietaria de las lentejas puede variar dependiendo de la variedad que se trate, en su forma cruda la lenteja roja tiene un menor porcentaje de este componente en comparación a la verde, debido a la presencia de cascarrilla que tiene la lenteja verde. La cocción tradicional disminuye en alrededor de un 50 % el contenido de fibra dietaria.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, E., & González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutr. Hosp*, 61-72.

Cabrera, J., & Cárdenas, M. (2006). Importancia de la fibra dietética para la nutrición humana. *Rev Cubana Salud Publica* V32 n4, 20-55.

González, A. (2000). Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol. 50(3), 281-285.

Hall, C., Hilen, C., & Garden-Robinson, J. (2017). Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. *Cereal Chemistry*, 11-31.

Mahan, L., Foster, L., & Dahl, W. (10 de Marzo de 2023). IFAS Extension. Obtenido de University of Florida: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FS240>

Sáenz-Reyes, J. T., Muñoz-Flores, H. J., Ruíz-Rivas, M., Rueda-Sánchez, A., Castillo-Quiróz, D., & Castillo-Reyes, F. (2022). Diagnóstico del cultivo de lenteja en unidades de producción familiar en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 35-44.

SIAP. (07 de Octubre de 2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>

Taghi-Gharibzahedi, S. M., Mousavi, S. M., Mahdi-Jafari, S., & Faraji, K. (2012). PROXIMATE COMPOSITION, MINERAL CONTENT, AND FATTY ACIDS. *Chemistry of Natural Compounds*, 976-978.

Udahogora, M. (2012). Health benefits and bioactive, compounds in field peas, faba beans, and chickpeas. *Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits*, 199-215.

HONGOS FITOPATÓGENOS ASOCIADOS AL CULTIVO DE ZARZAMORA (*Rubus* sp.)

Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez, Juan Mendoza-Churape, Margarita Vargas-Sandoval

Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

blanca.lara@umich.mx

RESUMEN

La zarzamora (*Rubus* sp.), representa uno de los cultivos de mayor importancia en México; a nivel estatal Michoacán es el principal exportador de su fruta y productor a nivel mundial, lo que genera una importante derrama económica a productores, así como divisas al país, y es una importante fuente de empleos, además de ser un producto con una tendencia ascendente en su demanda por sus propiedades organolépticas ideales para complementar y mejorar la alimentación humana. Sin embargo, una de las principales limitantes en la producción es la presencia de hongos fitopatógenos; los cuales disminuyen entre un 30 y 100% el rendimiento, debido a que algunos de estos fitopatógenos causan la muerte de las plantas, de acuerdo con lo anterior el objetivo de la presente investigación fue: Aislar e identificar hongos fitopatógenos en el cultivo de zarzamora en plantaciones localizadas en los municipios de Los Reyes y Tacámbaro, Michoacán, México. Se recolectaron plantas de zarzamora completas (raíz, frutos y flor) con síntomas de enfermedad. El aislamiento del fitopatógeno se hizo mediante el protocolo de Agrios (2005) que incluyó lavado y desinfección de material biológico y fueron sembradas en medio nutritivo PDA, también se realizaron pruebas de patogenicidad para determinar la relación fitopatógeno planta. Los resultados obtenidos fueron los siguientes; se aislaron dos cepas de cada región, de la comunidad de Santa Clara municipio de los Reyes el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* tanto en tallos como en raíz, el síntoma observado fue la secadera de las primocañas y finalmente la muerte de la planta, el otro hongo fue *Rhizopus* spp., asilada a partir de frutos que presentaban síntomas de pudrición acuosa y un micelio de color oscuro que invade por completo la fruta. Del municipio de Tacámbaro de la comunidad de Joyas Altas, la especie *Rhizoctonia* sp.; de frutos con el síntoma de pudrición suave, y de hojas con síntomas de tizón la especie *Pestalotia* sp., produciendo además de tizón una defoliación completa de las primocañas, dejándolas expuestas al sol y sin producción por el aborto de la fruta. Las pruebas de patogenicidad se hicieron tanto de las partes de donde fueron aislados los fitopatógenos (tallos, frutos y raíz); fueron positivas para todos los casos, confirmándose su patogenicidad.

INTRODUCCIÓN

De manera general las frutillas (berries) son un grupo de frutas también conocidas como frutos rojos, frutas finas y frutos del bosque, que se caracterizan por su tamaño pequeño y colores brillantes, en el que se incluyen principalmente la fresa, el arándano, la zarzamora y la frambuesa. Anteriormente, su producción se limitaba a un corto periodo de tiempo por su baja demanda, pero en la actualidad, han cobrado gran relevancia en el mercado agroalimentario por su consumo en fresco y sus propiedades para prevenir enfermedades, por esta razón, en la actualidad es posible encontrarlas en cualquier época del año (FIRA, 2022).

Dentro del grupo de las berries, se destaca la zarzamora por su alta demanda tanto nacional, como internacionalmente, ya sea por el agradable sabor de su fruto, o bien, por sus numerosas propiedades que benefician a la salud humana y que son una tendencia actual, motivo por el cual garantizan un crecimiento en la demanda del producto (FIRA, 2022), y consecuentemente, se ven beneficiados tanto productores por su alta rentabilidad, como trabajadores, al tener una fuente de empleo permanente que además, en etapas como la cosecha requiere de la mano de obra especialmente de mujeres.

Entre los principales problemas que afectan la producción de zarzamora, destacan de forma significativa los hongos fitopatógenos, debido a su amplia distribución y capacidad de adaptación, durante el proceso, merman la sanidad del cultivo y demeritan la calidad del fruto, lo cual se traduce en pérdidas hacia el productor tanto en volumen, como en desaprobación del producto, además del elevado costo que implica su control (Arauz, 1998).

Los hongos del género *Fusarium* son filamentosos oportunistas de mayor impacto en la agricultura (John y Brett, 2006) con una amplia distribución en suelo y plantas principalmente a través del agua, lluvia y viento mediante conidios (Caroline y Martijn, 2009) y estructuras de resistencia que le permiten sobrevivir en ausencia de condiciones adecuadas para su desarrollo (Lacy *et al.*, 1996; Oleg *et al.*, 2008), los cuales al infectar en plantas sanas producen secamiento de los vasos vasculares, clorosis en las hojas, enanismo y pudrición seca de la raíz, con algunas variaciones según el hospedero (George, 2004), mientras que en frutos se ha reportado al causar pérdidas en tomate, pimiento morrón, papaya, entre otros (Silveira *et al.*, 2001; Rocío *et al.*, 2011; Alfonso *et al.*, 2012).

Otro Género con especies de importancia fitopatógena que afecta un gran número de cultivos es *Rhizoctonia* el cual es un hongo filamentosos que no produce esporas sexuales, generalmente se le encuentra en el suelo, donde ocasiona daños en raíz, corona y base de los tallos, aunque otra parte importante de los daños se reportan en partes aéreas de las plantas, donde puede llegar a ocasionar defoliaciones en condiciones de alta humedad (Haralson *et al.*, 2013), o incluso daños a los frutos en calabaza pipiana (Diaz Nájera *et al.*, 2014), y en el caso de frutos de chile dulce (Rivera-Piedra, 1987).

Pestalotia spp. es un hongo generalmente fitopatógeno reportado en diferentes cultivos con climas templados a tropicales (Bate-Smith y Metcalfe, 2008), el cual frecuentemente se encuentra en la parte aérea de las plantas, donde puede atacar diferentes tejidos como follaje, tallos y frutos (Crous *et al.*, 2011, Yan *et al.*, 2013).

Una de las principales causas de que el fruto de la zarzamora tenga una vida de anaquel corta se debe a la presencia de hongos fitopatógenos, como el caso de los pertenecientes al género *Rhizopus*, los cuales tienen una amplia distribución (Quing *et al.*, 2002) y ocasionan pudriciones blandas en la superficie de los frutos cosechados mediante el macerado de los tejidos por medio de hidrólisis al excretar enzimas pectinolíticas que disuelven y degradan la pectina de la lámina media de las células vegetales y genera un olor desagradable a veces con fermentación (Herrera y Ulloa, 1998). Debido a la necesidad de conocer de forma precisa, los organismos asociados al cultivo de la zarzamora en zonas específicas y su relación con la planta, y con base a lo establecido anteriormente, se planteó el siguiente objetivo: Aislar e identificar hongos fitopatógenos en el cultivo de zarzamora en plantaciones localizadas en los municipios de Los Reyes y Tacámbaro, Michoacán, México, mediante la recolección de plantas y frutos con síntomas de enfermedad para el conocimiento de hongos fitopatógenos que se encuentren ocasionando el síntoma.

TEORIA

Los factores que limitan la producción de zarzamora, existen diferentes agentes y factores externos a la fisiología del cultivo que, al interactuar con plantas sanas, pueden provocar en ellas deficiencias y/o alteraciones en su correcto funcionamiento, por lo que representan un obstáculo para su desarrollo y se refleja en plantas raquílicas, con bajos rendimientos o incluso pérdidas considerables (George, 2004).

Fusarium spp. El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y las plantas, son considerados oportunistas y sus toxinas pueden ser patógenas tanto a plantas, como a humanos y animales domésticos. Actualmente se describen más de cien especies, de las cuales 12 se reportan como perjudiciales en humanos (Tapia y Amaro, 2014).

Las características que presenta este fitopatógeno necotrofo son su alta capacidad de desarrollarse en materia orgánica, así como su adaptabilidad para infectar plantas vulnerables debido a su fácil distribución a través del suelo (Michielse y Rep, 2009), además de que, en ausencia del hospedero, puede permanecer infectivo de forma latente mediante estructuras de resistencia, llamadas clamidosporas (Lacy *et al.*, 1996; Oleg *et al.*, 2008).

Históricamente se ha reportado a este fitopatógeno con una gran importancia en diferentes cultivos, tal es el caso de “el mal de Panamá”, que causó una devastación casi total en el cultivo del bananero en la década de los 60’s, o el caso de la costra del trigo y la cebada que causó la pérdida de varios miles de millones de dólares; además posee una amplia gama de hospederos debido a la diversidad de órganos que puede atacar, ya que puede causar pudriciones en tallo, raíz, canchales, marchitez, pudrición de semillas o frutos y enfermedades de las hojas (John y Brett, 2006).

Los síntomas característicos que presentan las plantas infectadas con el fitopatógeno son el secamiento de los vasos vasculares, clorosis en las hojas, enanismo y pudrición seca de la raíz, entre otros, y los cuales pueden variar con relación al hospedero (George, 2004).

El marchitamiento de la zarzamora por *Fusarium* spp., ha tomado gran importancia en los últimos años, sobre todo en la zona productora del municipio de los Reyes, donde sobresale el cultivar tupy como uno de los más afectados por el fitopatógeno, los síntomas se manifiestan como un amarillamiento progresivo de las hojas que comienza en las partes inferiores, hacia las partes superiores de la planta, hasta provocar la marchitez. En algunas ocasiones se presenta una veta en la parte inferior de los tallos con un color marrón oscuro; las raíces, corona y el sistema vascular toman una coloración de rojiza o marrón (Carrasco-Meraz *et al.*, 2017).

Las especies de *Fusarium*, presentan conidios en forma de media luna, hialinos y septados, y solo algunas especies presentan microconidios, los cuales pueden mostrar formas fusiformes, ovoides, clavadas, entre otras; y finalmente, desarrollan clamidosporas con doble pared, la cual puede ser lisa o rugosa y pueden encontrarse de manera aislada, en pares o grupos (John y Brett, 2006).

Para su crecimiento *in vitro* se utilizan distintos medios de cultivo, como PDA (papa dextrosa agar) y agar sabouraud, que se utiliza para observar características como tamaño, morfología y pigmento de la colonia, CLA (Carnation leaf agar), que permite observar el desarrollo de cadenas de microconidios y morfología en detalle de macroconidios (Tapia y Amaro, 2014).

Pestalotia spp. Es un género de hongos asexuales, produce conidios con apéndices (Lee *et al.*, 2006) y se distribuye ampliamente en regiones tropicales y templadas (Bate-Smith y Metcalfe, 2008), fue aislado por primera vez de plantas de *Vitis vinifera* en Italia, se reporta como hongo fitopatógeno al causar lesiones de cancro, muerte de brotes, manchas en las hojas, tizones de aguja, en las puntas y grises, costras cancerosas, clorosis severa, pudriciones del fruto y varias enfermedades postcosecha en diferentes cultivos (Crous *et al.*, 2011; Yan *et al.*, 2013). Presenta conidios ovoides con células que lo dividen, por lo regular tres intermedias color marrón oliváceas y dos celdas terminales hialinas, con apéndices simples o ramificados que surgen de la celda apical, las cuales pueden ser monosetuladas, bisetuladas, trisetuladas o multisetuladas (Yan, 2013).

Algunas especies de *Pestalotia* se han asociado a infecciones de humanos y animales (Sutton, 1999; Monden *et al.*, 2013).

De acuerdo con la literatura, el género *Pestalotia* provoca pérdidas considerables en manzana, arándano, coco, castaño, jengibre, vid, guayaba, avellana, lichi, mango, orquídea, melocotón, rambután, te y manzana de cera (Sun y Cao, 1990; Sangchote *et al.*, 1998).

Rhizotocnia spp. Este género fue establecido por Candolle (1815), el cual consta de hongos filamentosos que no producen esporas asexuales y comparten características generales (González, 2008), como hifas de color café, o café pálido con ramificaciones laterales en ángulos de 90° con constricciones, células moniloides y esclerocios presentes, que pueden ser color café a café oscuro (Watanabe, 2002), es más común en su estado imperfecto y posee características similares a las de otros hongos del suelo (Cedeño, 1978).

Este complejo género, posee gran número de especies de importancia agronómica, ya que presentan características patogénicas a distintos grupos de plantas, en cambio, otra parte de las especies muestran hábitos saprobios y viven en materia orgánica en descomposición, mientras que el resto de las especies, establecen relaciones simbióticas con distintos tipos de orquídeas y musgos (Cubeta y Vilgalys, 2000).

Algunas especies de *Rhizoctonia* como *R. solani*, producen pérdidas considerables en diferentes cultivos, como la soja en los Estados Unidos, donde ha provocado pérdidas hasta del 50%, y en Argentina se le menciona como uno de los principales agentes causales del damping off en la etapa de emergencia.

Los daños reportados para el cultivo de arándano incluyen lesiones en el tallo y la raíz, manchas en las hojas y defoliación cuando se presenta alta humedad relativa, el fitopatógeno sobrevive en forma de micelio dentro o sobre los restos de plantas, y en ausencia de éstas, en forma de esclerocios en el suelo (Haralson *et al.*, 2013), Navarrete *et al.* (2009), mencionan que este fitopatógeno ocasiona la pudrición de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y produce la muerte ya sea en pre o post-emergencia el síntomas de manchas en forma ovals hundidas de color café rojizo y seco.

Rhizopus spp. es un hongo filamentoso perteneciente a la clase zygomycota en el orden de los mucorales (Schipper y Stalpers, 1984), presenta varias especies capaces de subsistir en diferentes tipos de condiciones ecológicas, por lo que se considera un hongo cosmopolita que posee un interés científico en los ámbitos gastronómico-biotecnológico, ya que se utilizan algunas especies, como *R. oryzae* y *R. oligosporus* para la fermentación de productos típicos como el zake (bebida alcohólica asiática) y el tempe (producto a base de soya parecido a la carne) (Egounlety y Aworh, 2003).

En la industria se emplea para la obtención de saborizantes artificiales y aditivos nutricionales como el ácido láctico, mientras que en biotecnología se utiliza la especie *R. microsporus* para la obtención de enzimas amilasas termorresistentes (Piexoto *et al.*, 2003).

Dentro de la agricultura, el impacto de *Rhizopus stolonifer* es mayormente negativo al ser uno de los principales factores biológicos que atacan a los frutos en etapa postcosecha y se presenta como pudriciones blandas en la superficie de estos (Quing *et al.*, 2002).

Rhizopus sp. es un hongo versátil para su supervivencia con un amplio rango de temperaturas para su desarrollo, las cuales pueden ir desde los 4 °C como mínima y hasta 38 °C como máxima, además de variadas humedades relativas; coloniza fácilmente restos de plantas y frutos maduros cosechados al utilizar heridas o hendiduras naturales para infectar, su crecimiento en relación a otros hongos es muy rápido y sus esporas poseen gran movilidad a través del viento y el suelo, por lo que en poco tiempo puede colonizar los productos hortofrutícolas cosechados. Este hongo posee características distinguibles que facilitan su identificación, tales como su micelio cenocítico aéreo y filamentosos color blanco con esporangios de color negro, lo que le da una apariencia punteada, en el microscopio se

observan numerosos rizoides con esporangióforos alargados y erectos, esporangios redondos con numerosas esporangiosporas (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2009).

Rhizopus spp., ataca a los frutos cosechados, produce el macerado de los tejidos mediante hidrólisis al excretar enzimas pectinolíticas que disuelven y degradan la pectina de la lámina media de las células vegetales y genera un olor desagradable a veces con fermentación, ataca un amplio número de frutas y hortalizas, donde destacan principalmente las drupas, berries, cucurbitáceas, solanáceas, tubérculos, ajos, entre otros y representa una de las principales amenazas a la producción de estos vegetales ya que este agente se encuentra de forma natural en la cutícula de los productos cosechados (George, 2004; Quing *et al.*, 2002; Hernández-Lauzardo *et al.*, 2009).

PARTE EXPERIMENTAL

El material biológico utilizado para la investigación fueron plantas de zarzamora de cultivos comerciales recolectadas de los municipios de Los Reyes (19°35'00"N 102°28'00" W) a una altura de 1536 msnm, en la localidad de Santa Clara y Tacámbaro, Michoacán (19°14'08"N 101°27'25" W) a una altura de 1654 msnm, en la localidad de Joyas Altas, las plantas recolectadas presentaban síntomas de marchitamiento, clorosis, tallos necrosados y algunos con líneas longitudinales color marrón, de las se recolectó la base del tallo, raíz y corona así como frutos, para la posteriormente determinar el agente causal que provoca la alteración, mediante el aislamiento *in vitro* en laboratorio, Figura 1.

El aislamiento del fitopatógeno se hizo mediante el protocolo de George (2004), incluyo lavado y desinfección del material biológico, y siembra en medio nutritivo PDA, y se colocaron 5 trozos por caja de manera equidistante, se sellaron con Kleen pack y se marcaron con un código diferente según su zona de procedencia para su almacenamiento en oscuridad y posterior monitoreo a 25 °C en una estufa de incubación. Las primeras colonias de hongos fueron separadas mediante transferencia de hifa. Se evaluó la forma y color de las colonias y estructuras reproductivas usando las claves Barnett y Hunter (1998); Kornerup y Wanscher (1978); John y Brett (2006), González-García (2008), Guba (1961), se consideró el crecimiento color y forma de las colonias, así como las características microscópicas de la forma del micelio y de las estructuras reproductivas (esclerocios, conidios, etc.), para esto último se elaboraron preparaciones permanentes y se observaron en microscopio compuesto Nikon HOL a 20X y 40X, para hacer su identificación taxonómica

Para llevar a cabo las pruebas de patogenicidad (determinar la relación fitopatógeno hospedero), se inocularon cada una de las cepas aisladas en tallos y frutos sanos de zarzamora, de la siguiente manera con un sacabocados se hicieron discos de 5 mm y se colocaron en cada uno de los frutos y tallos respectivamente, los cuales previamente se desinfectaron con una solución de cloro comercial al 3.3% durante tres segundos frutos y los tallos 15 segundos, a continuación se enjuagaron con agua destilada estéril y se secaron en sanitas estériles, posteriormente se colocaron dentro de una cámara húmeda que fue una caja hermética de plástico (Mca. Sterilite), se revisaron diariamente en la mañana y tarde, hasta la aparición de síntomas. En el testigo se utilizó únicamente medio de cultivo sin micelio.



Figura 1. Síntomas en plantas observados en campo. plantas con marchitamiento entre plantas sanas (A); plantas cloróticas (B). vetas color marrón oscuro en la base de los tallos (C y D).

RESULTADOS

Se aislaron cuatro cepas a partir de los síntomas de marchitez de plantas de zarzamora en medio nutritivo PDA, se observaron colonias con abundante micelio, algodonoso de diferente coloración, a las cuales se les asignó una clave de cepario para su mejor manejo e identificación dentro del cepario de la siguiente manera; para la comunidad Santa Clara municipio de los Reyes con la clave STC1 y STC2, para la comunidad Joyas Altas municipio de Tacámbaro ARO1 y ARO2.

De la comunidad Santa Clara municipio de los Reyes, la STC1 las características culturales observadas fueron; micelio abundante aéreo flocoso con una coloración violeta grisáceo y manchas blancas (Kornerup y Wanscher, 1978), crecimiento irregular en los bordes y ausencia de pigmentación del medio de cultivo, De acuerdo con Barnett y Hunter (1998), y John y Brett (2006), las características morfológicas presentadas por la cepa corresponden al género *Fusarium*, debido a la presencia de micelio septado, conidios septados en forma de “canoas”, numerosos microconidios y clamidosporas esféricas como estructuras de resistencia, se identificó la especie *Fusarium oxysporum* Snyder & Hansen

Figura 2.

La segunda especie fue la cepa STC2, las características culturales y microscópicas fueron: presentó crecimiento rápido de la colonia en medio de cultivo PDA, el micelio cubrió por completo la caja de Petri con apariencia de tipo vellosa, algodonosa y seca, se presentó una coloración blanca en estado joven y un tono grisáceo al envejecer. Posteriormente se observaron estructuras al microscopio, las cuales mostraron hifas hialinas, cenocíticas con esporangióforos largos y sin ramificaciones que

culminan en esporangios de tamaño visible con esporangiosporas hialinas a café claro, de acuerdo con Bonifaz (2012), características similares al género *Rhizopus*, identificando la especie *Rhizopus* sp., del orden de los Mucorales, Figura 2.

Cepa ARO1. Con crecimiento fue radial y cubrió de forma total el medio de cultivo, presentó micelio algodonoso con coloración gris oscuro con manchas blancas (Kornerup y Wanscher, 1978), además de características morfológicas definidas, tales como coloración café grisácea, hifas enrolladas, micelio estéril, septado, con ángulos de 90° y multinucleado, características determinantes del género *Rhizoctonia* de acuerdo a las descripciones hechas por Kornerup y Wanscher, (1978), Barnett y Hunter (1998) coinciden con la especie *Rhizoctonia* sp., Figura 2.

Cepa ARO2. Las características culturales y microscópicas que presento esta cepa fueron; crecimiento rápido algodonoso aéreo flocoso color blanco en PDA, en el reverso amarillo pálido (Kornerup y Wanscher, 1978), que, al envejecer, produjo gotas aceitosas color negro, de estas se hicieron preparaciones permanentes y en ellas se observaron acérvulos simples con conidióforos que presentan conidios con cinco células, tres intermedias con un color marrón oliváceo, y dos terminales hialinas, con presencia de tres apéndices en la célula apical, características que coinciden con el género *Pestalotia*, de acuerdo a las descripciones de Guba (1961) y Barnett y Hunter (1998), identificando la especie *Pestalotia* sp. Figura 2.

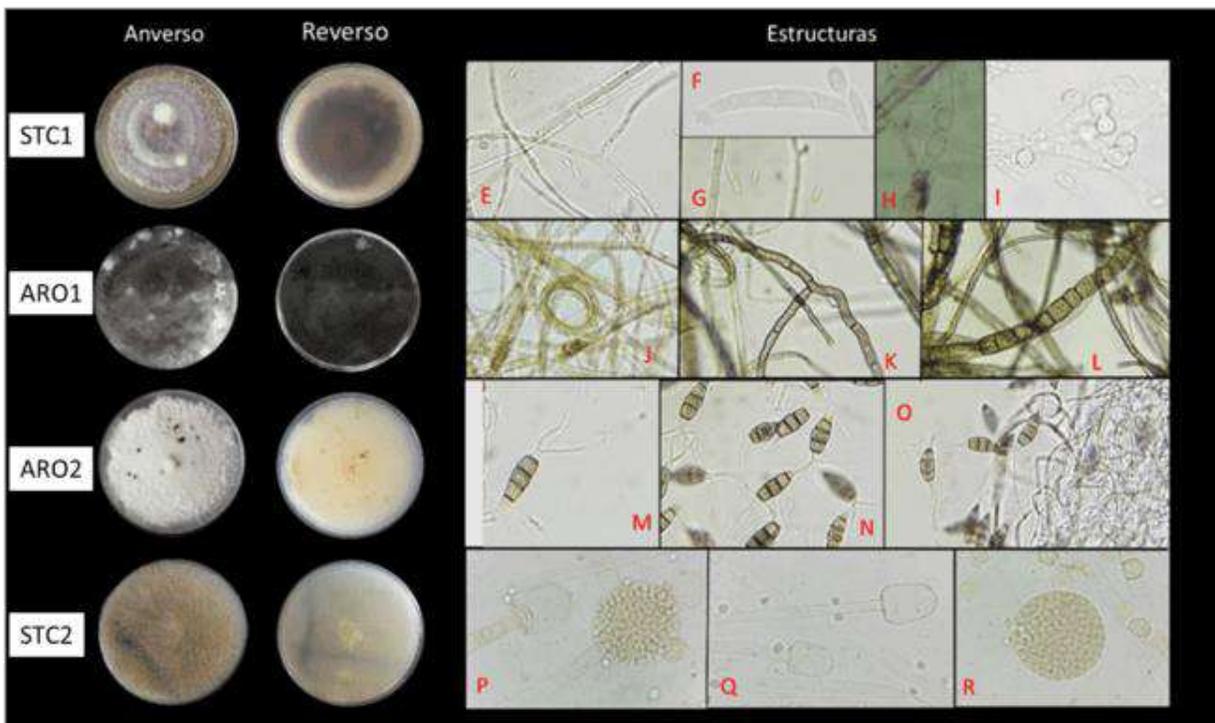


Figura 2. Características de las cepas: anverso y reverso; Micelio septado con macro, microconidios (E, F, G) clamidosporas (H y I) STC1 *Fusarium oxysporum*; Hifas enrolladas (J), micelio en ángulos de 90° (K), micelio monilioide (L) cepa ARO1, *Rhizoctonia* sp.; Conidios (M, N, O) *Pestalotia* sp. ARO2; Esporangióforos y conidios (P, Q y R) *Rhizopus* sp. STC2.

Estudio de patogenicidad

En el estudio de patogenicidad, la manifestación de los síntomas se vio influenciado por las condiciones de temperatura y humedad ambiental proporcionadas, tuvieron influencia directa en la virulencia y en la severidad de la enfermedad producida por los diferentes fitopatógenos aislados permitiendo que se manifestaran los síntomas de la enfermedad en frutos de zarzamora con todos los fitopatógenos aislados, así como en las primocañas donde se observaron los mismos síntomas que en campo, Figuras 3 y 4.

los tallos presentaron manchas necróticas secas de color café oscuro y apariencia hundida, desarrollo de micelio blanco a las 48 h, después de los primeros síntomas el avance fue lento, pero siempre fueron iguales hasta las 120 h que fue cuando se terminó el experimento, posteriormente se realizaron cortes longitudinales en los puntos afectados para observar internamente el daño en el sistema vascular del tallo, donde los haces vasculares se necrosaron, así como el demás tejido interno. Estos resultados coinciden con lo reportado por George (2004) quien reporta manchas necróticas en los tallos de tomate inoculados con *Fusarium* sp., mientras que Zúñiga y Reyes (2018) mencionan la misma incidencia de necrosis en los haces vasculares en plantas de jitomate inoculadas con *Fusarium oxysporum*

En frutosa las cuatro cepas aisladas (STC1, STC2 ARO1 y ARO2) fueron patogénicas en frutos de zarzamora, la manifestación de los síntomas se vio influenciada por las condiciones de temperatura y humedad ambiental proporcionadas, las cuales tuvieron influencia directa en la virulencia y severidad de la enfermedad producida por los diferentes fitopatógenos, permitiendo que se manifestarán los síntomas de la enfermedad en los frutos. En contrasta con lo observado por Mayorga *et al.* (1969) en el fruto de guayaba, donde menciona que el ataque se manifiesta inicialmente como diminutas manchas de color marrón claro que posteriormente se tornan más oscuras y aumentan de tamaño formando una costra que puede llegar a cubrir toda la superficie de la epidermis, lo que no permite la maduración del fruto, cuando se inocula *Pestalotia* sp.

Estos resultados de investigación pueden aplicarse de manera directa en el campo en identificación y control integrado de los fitopatógenos en sus diferentes hospederos y entre ellos el cultivo de la zarzamora, siempre y cuando se conozcan características particulares de su ciclo de vida, así como su preferencia por ciertos hábitats y su capacidad de respuesta ante ciertas condiciones del medio ambiente, estas son algunas características más importantes que se deben tener en cuenta cuando se trate de controlar una enfermedad de tipo fungoso. Aun cuando algunas enfermedades se controlen con un solo método, casi siempre es necesario una combinación de varios métodos para controlar la mayoría de las enfermedades (Jurgen, 1990).



Figura 3. Síntomas observados de tallos de zarzamora con la *Fusarium oxysporum*; 24 horas después de la inoculación (A); 48 h (B); 72 h (C); 96 h (D); 120 h, tallos completamente dañados (E); corte longitudinal de tallo, donde se observa daño en el cilindro central de la planta (F); testigo sin daño (G).

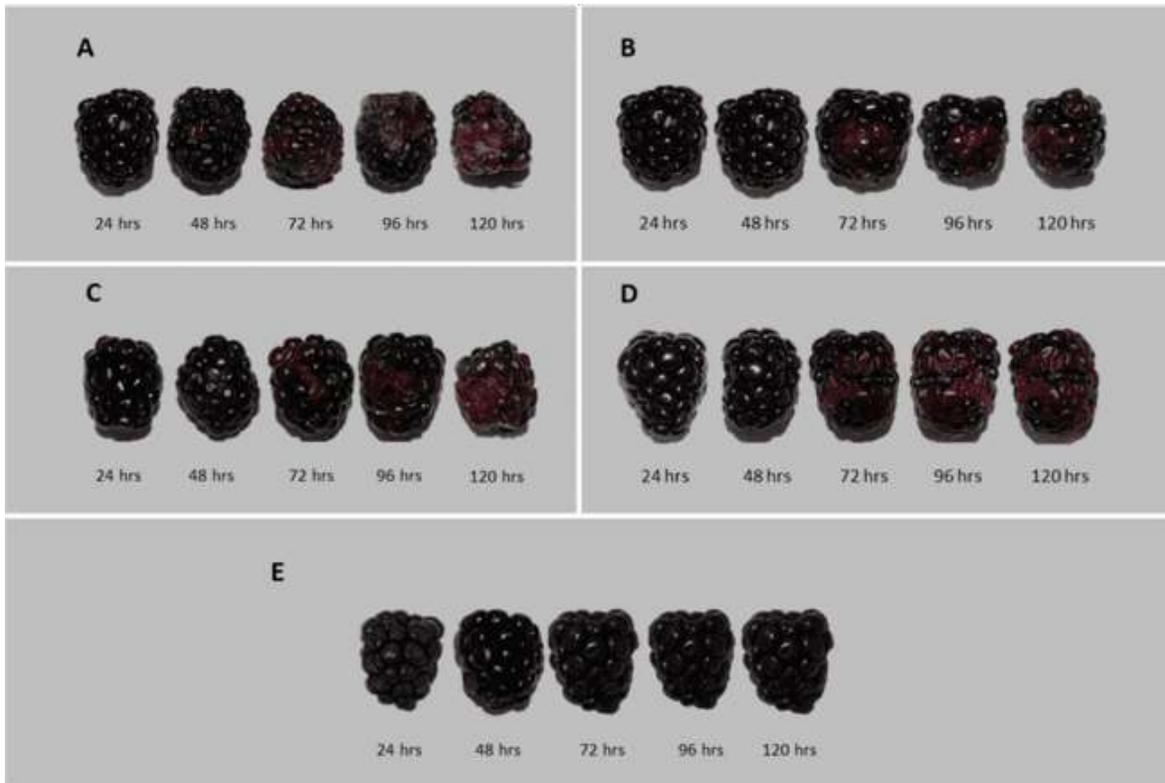


Figura 4. Frutos de zarzamora inoculados con cada una de las cepas, *Rhizopus* sp. (A); *Fusarium oxysporum* (B); *pestalotia* sp. (C); *Rhizoctonia* sp. (D); Testigo sin inóculo (E).

CONCLUSIONES

De los aislamientos obtenidos de raíz, corona y tallos de plantas de zarzamora *Rubus* sp., recolectadas de los municipios de los Reyes (Santa Clara) y Tacámbaro (Joyas Altas), se identificaron taxonómicamente los hongos fitopatógenos; *Fusarium Oxysporum*, *Pestalotia* sp., *Rhizoctonia* sp., y *Rhizopus* sp.

En las pruebas de patogenicidad, tanto en tallos como en frutos fueron positivas con la inoculación de los cuatro hongos fitopatógenos, produciendo los mismos síntomas observados en campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Bonifaz, Micología médica básica. Hongos contaminantes. 4ª edición. McGrawHill, 2012. México Capítulo 5, p. 320.
2. A. Kornerup, y J. H. Wanscher, Methuen handbook of colour. Third edition. Introduced and revised by Don Pavey. Eyre Methuen, 1978, p. 5, London.
3. A. N. Hernandez-Lauzardo, M. G. Velazquez-del Valle, L. Vernanza-Castelan, G. E. Melo-Giorgana, y M. G. Guerra-Sanchez, 2009. Effect of chitosan on three isolated of *Rhizopus stolonifer* obtained from peach, papaya and tomato fruits. Vol. 65, 2009, pp. 645-253.
4. C. Tapia, y J. Amaro, Genero *Fusarium*. Revista chilena de infectología, Vol. 31, 1, 2014, pp. 1.
5. D. A. Sutton, Coelomycetous fungi in human disease. A review: clinical entities, pathogenesis, identification and therapy. Revista iberoamericana de micología. Vol. 16, 1999, pp. 171-179.
6. D. Oleg, S. Richard, C. Michael, K. Steve S. Hugh. J. Aguilar, Q. José; Q. Carlos Cantwell, C. Marita; T. Etaferahu, Celery production in California. The regent's division of agriculture and natural resources, University of California, División of Agriculture and Natural Resources, Publication 7220, 2008 pp 1-4.
7. E. C. Bate-Smith, C. R. Metcalfe, Leuco-anthocyanins. 3. The nature and systematic distribution of tanin in dicotyledonous plants. The journal of the linnean society, botany Vol. 55, 2008, pp. 669-705.
8. E. F. Guba, Monograph of *Pestalotia* and *Monochaetia*. Harvard University Press, Cambridge, 1961, pp. 239-240.
9. F. L. John and S. A. Brett, The fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, 2006, p. 388.
10. F. Quing, T. Shiping, L. Haibo, y X. Yong, Production of β -1,3- glucanase and chitinase of two biocontrol agents and their possible modes of action. Chinese science bulletin. Vol. 47, 4, 2002, pp. 292-296.
11. FIRA. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. Panorama agroalimentario. dirección de investigación y evaluación económica y sectorial. Berries. 2022.
12. G. M. Gonzáles, 2008. Aspectos de sistemática y Biología del complejo *Rhizoctonia*. Fitosanidad, Vol.12, 3, 2008, pp. 147-159.

13. H. A. Carrasco-Meraz, L. Zamacona-corona, A. Rebollar Alviter, H. V. Silva-Rojas, A. Hernandez-Cruz, R. Gonzalez-Villegas, S. Romero-Bautista. Pathogenic variability, host range and sources of primary inoculum of *Fusarium oxysporum* causing blackberry wilting in Michoacán Mexico. XXV Congreso de la Sociedad Chilena de Fitopatología XIX Congreso Latinoamericano de Fitopatología LVII APS Caribbean Division Meeting. 2017.
14. H. L. Barnett and B. B. Hunter, Illustrated genera of imperfect fungi, Fourth Edition. APS, p 218. 1998.
15. H. T. Sun y R. B. Cao, Identification of Pestalotiopsis parasitized on fruit crops (in Chinese). Acta Agriculturae University Zhejiangensis Vol. 16, 1990, pp. 179-185.
16. J. C. Haralson, P. M. Brannen, D. S. NeSmith, H. Schern, Chemical control of *Cylindrocladium* and *Rhizoctonia* root rots in blueberry propagation. Crop protection. Vol. 44, 2013, pp 1-5.
17. J. F. Díaz Nájera, M. Vargas Hernández; S. Ayvar-Serna, O. G. Alvarado-Gómez, J. F. Solís Aguilar, J. A. Durán-Ramírez, H. L. Díaz Ceniceros y A. Hernández-Aguilar, Identificación morfológica y por PCR de *rhizoctonia solani* kühn a partir de frutos de calabaza pipiana y su manejo en invernadero. Revista de ciencias biológicas y de la salud. Vol. 16, 3, 2014, pp 17-21.
18. K. Jurgen, Epidemics of plants Diseases: Mathematical Analysis and Modeling. Second, complementaly Revised Edition, p.268.
19. L. Cedeño, Características Culturales, Condición nuclear y grupos de anastomosis en aislamiento de *R. solani* fondo nacional de investigaciones agropecuarias. Venezuela, Vol. 28, 2, 1978, pp.151-161.
20. L. F. Arauz-Cavallini, Fitopatología, un enfoque agroecológico. Editorial de la Universidad de Costa Rica Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". 1ª Edición. 1998.
21. M. A. A. Schipper and J. A. Stalpers, A revision of the genus *Rhizopus*. Studies in mycology No. 25, 1984, pp. 34.
22. M. A. Cubeta, R. Vilgalys. *Rhizoctonia*, Encyclopedia of microbiology, Academic press 4, EE.UU. 2000, pp. 109-117.
23. M. F. Mayorga, G. Barrero y S. Rodríguez. 1969. Las costras de la guayaba: Identificación, comportamiento y control del microorganismo que las causa. Tunja, Colombia. Trabajo de grado (Ingeniero Agrónomo). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia – UPTC. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Ingeniería Agronómica. 74 p.
24. M. B. Caroline, y R. Martijn, Pathogen Profile Update: *Fusarium oxysporum*. Molecular plant pathology. Vol. 10, 3. 2009, pp. 311-324.
25. M. Egounlety, y O. C. Aworh, Effect of ssoaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibithor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculate* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). Journal of food engeenering. Vol. 56, 2003, pp. 249-254.
26. M. Gonzáles-García, Aspectos de sistemática y Biología del complejo *Rhizoctonia*. Fitosanidad. Vol. 12, 3, 2008, pp. 147-159.
27. M. L. Lacy, R. D. Berger; R. L. Gilbertson, E. L. Little, Current challenges in controlling diseases of celery. Plant Disease 80, 1996. pp.1084-1091. Leslie, J; Summerell, BA. 2006. The *Fusarium* laboratory.
28. M. Z. Yan, M. Sajeewa, T. Qing, D. H. Levin, *Pestalotiopsis* species on ornamental plants in Yunnan Province, China. Sydowia. Vol. 65, 1, 2013, pp. 59-74.
29. N. G. Gorge, Plant pathology. 5th Elsevier, 780 p, 2004.
30. N. S. S. Silveira R. L. R. Mariano, S. J. Michereff, L. C. Maia, S. M. A. Oliveira, Hongos fitopatógenos asociados a frutos comercializados en Recife, Pernambuco (Brasil). Boletín Micológico. Vol. 16, 2001, pp. 41-47.

31. O. Rivera-Piedra, Efecto de la temperatura en la manifestación de patogenicidad de microorganismos portados sobre la superficie de frutos de chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis, Licenciatura en Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Agrarias, Heredia, Costa Rica, 1987, p. 165.
32. P. W. Crous, S. A. Brett, L. Swart, S. Denman, J. E. Taylor, C. M. Bezuidenhout, M. E. Palm, S. Marinowitz, J. Z. Groenewald, Fungal pathogens of Proteaceae. PubMed Personia, Vol. 27, 2011, pp. 20-45.
33. Q. Fan, S. P. Tian, H. B. Liu, Y. Xu, Production of beta-1,3-glucanase and chitinase of two biocontrol agents and their possible modes of action. Chinese Science Bulletin. Vol. 47, 4, 2002, pp. 292-296.
34. R. Navarrete-Maya, E. Trejo-Albarrán, J. Navarrete-Maya, J. M. Prudencio-Sains, J. Acosta-Gallegos, Reacción de genotipos de frijol a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero. Agricultura técnica en México, Vol. 35, 4, 2009, pp. 455-466.
35. S. C. Piexoto, J. A. Jorge, H. F. Terenzi, y M. L. T. M. Polizeli. *Rhizopus microsporus* variedad *rhizopodiformis*: a thermostable amylases. International microbiology. Vol. 6, 2003, pp. 260-273.
36. S. Lee, P. W. Crows, M. J. Wingfield, Pestalotioid fungi from restionaceae in the cape floral kingdom. Studies in mycology Vol. 55, 2006, pp. 175-187.

37. S. Sangchote, U. Farungsang, N. Farungsang, Pre and postharvest infection of rambutan by pathogens and effect on postharvest treatments. In: disease control and storage life extensión in fruits (Coates L. M. Hofman P. J. Johnson G. I. eds), ACIAR Proceedings, Vol. 81, 1998, pp. 87-91.
38. S-Ch. Rocío Aurora, M-P, Ramón Álar, H-I. Monserrat, F-E. Eduardo, A-M. Sofía, S-M. Lourdes, Control biológico y químico contra *Fusarium stilboides* en pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) en poscosecha. Revista Chapingo. Serie horticultura. Vol. 17, 2, 2011, pp. 161-172
39. T. Herrera, y M. Ulloa, El reyno de los hongos micologia basica y aplicada. editoriales UNAM y Fondo de Cultura Economica. Mexico, D.F. p. 552, 1998.
40. T. Watanabe, Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphogies of cultures fungi and key to Species. Second edition. CRC press. New York Washington D.C. 2002, 500 p.
41. V-L. Alfonso, H-C. Elías; M-A, J. Antonio, N-D. Cristian, S-G. Francisco, Etiología y epidemiología de la necrosis de flores y frutos juveniles del papayo (*Carica papaya* L.) en Guerrero, México. Agrociencia. vol. 46, 8, 2012, pp. 757-767.
42. V. G Zúñiga-Bonilla, L. Reyes-Quintero, Caracterización del agente causal de la secadera del jitomate y su control in vitro. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, 2018, Facultad de Agrobiología, Presidente Juárez" p. 45.
43. Y. Monden, S. Yamamoto, R. Yamakawa, A. Sunada, S. Asari, K. Makimura, and Y. Inoue, First case of fungal keratitis caused by *Pestalotiopsis clavispota*. Clinical ophtalmology Vol. 7, 2013, pp. 2261-2264.

CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS DE JITOMATE EN LA ECONOMÍA CIRCULAR DE LA CADENA PRODUCTIVA

Paola Cristina Arriaga Meléndez ¹, José Enrique Botello Álvarez ², Pasiano Rivas García ³, Liliana Fausto Castro ⁴ y Brenda Ríos Fuentes ⁵

¹Departamento de Ingeniería Agroindustrial, CCS, Universidad de Guanajuato, ²Instituto Tecnológico de Celaya, ³Universidad Autónoma de Nuevo León, ⁴Universidad del SABES, ⁵Departamento de Ingeniería Agroindustrial, CCS, Universidad de Guanajuato.
pc.arriagamelendez@ugto.mx

RESUMEN

Según la FAO, en México se desperdician más de 10 mil toneladas de alimentos por año, siendo el 37% de la producción agropecuaria del país. El jitomate es una de las principales hortalizas que se cultivan y consumen a nivel mundial, contribuye de manera significativa al suplemento de vitaminas A y C, licopeno, fenoles, β -caroteno y antioxidantes, los cuales ayudan a eliminar los radicales libres con su efecto barrido. Diversos estudios reportan la prevención de distintos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Diferentes factores como el estado de maduración, condiciones de cultivo, de almacenamiento y/o efectos ambientales afectan su composición, siendo este último el principal factor que afecta sus procesos biológicos, teniendo pérdidas de hasta el 28.8% anual, en costas caribeñas se han reportado pérdidas de hasta el 17.78% del producto neto producido. El objetivo del proyecto fue caracterizar fisicoquímicamente el jitomate residual y fresco, para reincorporar el residuo en nuevas cadenas de procesamiento que permitan una economía circular en la producción de jitomate, generando productos con mejor contenido nutrimental y disminuyendo los impactos ambientales generados. Los residuos de jitomate se desinfectaron, cortaron y deshidrataron a las diferentes temperaturas (70, 80 y 90°C) y se realizaron las isotermas de secado. Los análisis proximales se llevaron a cabo mediante las metodologías AOAC. Se cuantificó el licopeno y se determinaron los furanos, específicamente del 5-hidroximetil-2-furfural (HMF). Los tiempos de secado oscilaron entre 12, 10 y 8 h respectivamente (70, 80, 90°C), tanto en jitomate fresco como residuo, obteniendo una cantidad de agua por sólido menor a 0.2% en cada muestra. El porcentaje de humedad fue 95.69% y 95.33%, ceniza del 14.81% y 15.14%, en proteína 0.06% y 0.04%, en grasa 0.2% y 0.09%, en fibra 0.0001% y 0.00008%, en fresco y residual respectivamente. Al incrementar la temperatura, disminuye el tiempo de secado del residuo de jitomate. Por otro lado, el licopeno se degrada a altas temperaturas, en el residuo de jitomate, mientras que la concentración en jitomate fresco aumentó. La concentración de furanos se incrementa conforme incrementa la temperatura de secado.

INTRODUCCIÓN

Origen

El término jitomate (*Solanum lycopersicum*) proviene del náhuatl *tomatl* que significa objeto gordo. Según algunos estudios taxonómicos, se cree que el jitomate tiene origen en las zonas Andinas, es decir, los países de Chile, Ecuador, Colombia y Bolivia, siendo donde se encuentran actualmente la mayor parte de jitomates silvestres, así como como donde se encuentra la mayor variabilidad genética; sin embargo, no hay evidencia que demuestre su uso en las culturas de esas regiones, por lo que se cree que existió en estos territorios, pero no formó parte de la dieta. Con ello se reconoce a México como el domesticador de tal hortaliza, incluso antes de la llegada de los españoles al territorio, siendo las culturas indígenas que habitaban en el centro y el sur los primeros en

implementar tal fruto para su alimentación. Hoy se tiene el registro de molcajetes usados para triturar diferentes vegetales en tiempos muy antiguos, incluido entre ellos el jitomate, llegando a ser sitios arqueológicos, como la zona de los aztecas y mayas (Long, 1995). Con la llegada de Cristóbal Colón a América el uso del jitomate se fue propagando por todo el mundo, los españoles lo implementaron en su gastronomía en el siglo XVI y después se introdujo a Italia en el siglo XVII, en el año 1560 (Cuesta Trejo, 2007). Una leyenda cuenta que en 1559 el conquistador Hernán Cortés encontró el fruto en los jardines de Moctezuma, quien era el gobernador de la ciudad Tenochtitlan en ese momento, entonces llevó el jitomate en su regreso al continente europeo (Ironika, 2016).

Importancia económica y producción a nivel mundial

El jitomate tiene una gran importancia a nivel mundial, tanto nutrimental, como alimenticia, así como económica, ya que cada vez su demanda aumenta más y con ello su producción, cultivo y comercio

El jitomate tiene una gran importancia a nivel mundial, tanto nutrimental, como alimenticia, así como económica, ya que cada vez su demanda aumenta más y con ello su producción, cultivo y comercio (InfoAgro, 2019). China y Estados Unidos de América son los principales productores con 25 y 12.2 millones de toneladas respectivamente. Otros de los productores más grandes son Turquía, India, Egipto e Italia con más de 5 millones de toneladas producidas (Porporatto, s.f.). Actualmente se cultivan 27 toneladas por hectárea cada año, donde un cuarto se destina a la industria procesadora. Los principales consumidores son EE. UU., Italia y Canadá. Mientras que los principales exportadores son España y México, distribuyendo 3 millones de toneladas de jugo de jitomate y 1.8 millones de toneladas de pasa de tomate (Yara, 2023).

Importancia económica y producción en México

México cuenta con el décimo puesto en producción de jitomate a nivel mundial, siendo su tercer producto más exportado y convirtiéndolo en uno de los principales países exportadores de jitomate a nivel mundial, con 1.5 millones de toneladas, es decir, aproximadamente el 50% de su producción neta (InfoAgro, 2019). Los principales estados productores son Sinaloa, San Luis Potosí, Baja California, Zacatecas y Michoacán: ya que su superficie y clima son idóneos para el crecimiento de esta fruta (Calderón Chávez & Cárcamo Solís, 2018). Los tipos de jitomate que más se producen son el Saladett, Bola, Cherry, Racimo, Mimi y Campari; siendo el primero el más producido por gran diferencia, además de ser el que más inflación presenta por alta demanda. El jitomate tipo Bola es el que menos fluctuaciones presenta, mientras que todos los demás son los que precios más inestables presentan (InfoAgro, 2019).

Según la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) se estima que para el 2030 exista un aumento del 32.1% en exportación a nivel mundial, ya que la producción a nivel nacional tiene capacidad de aumentar en un 125.8% (SAGARPA, 2017). Es importante recalcar que la exportación de este producto conlleva un beneficio, ya que se ve reflejado en el Producto Interno Bruto (PIB) del país (Calderón Chávez & Cárcamo Solís, 2018). Las operaciones de producción se han propagado en estados como Colima, México, Hidalgo, Querétaro y Sonora (InfoAgro, 2019), además existen 42 regiones potenciales, que pueden ser productoras con alto o medio potencial, entre ellas se encuentran estados como Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Guanajuato, Nuevo León, Chihuahua, Durango; entre otros (SAGARPA, 2017).

Importancia económica y producción en el Estado de Guanajuato

Según el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG), en el Estado de Guanajuato la producción de jitomate juega un papel importante en economía, al generar de forma directa e indirecta miles de empleos al año (CESAVEG, 2010). En 2021 el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP de SAGARPA), en Guanajuato se destinaron más de 1000

hectáreas al año para la siembra de la hortaliza, donde casi 10 mil toneladas resultaron como mercado de exportación, generando una derrama económica de 58.8 miles de pesos. Para finalizar, en el distrito de Celaya, el mismo año, se produjo más de 14 mil toneladas para el mercado tanto nacional como de exportación, generando un valor más de 86 mil millones de pesos (SIAP, 2021).

Importancia nutrimental

El jitomate es una de las principales hortalizas que se cultivan a nivel mundial, son consumidos crudos o procesados, en diferentes platillos, ya sean salsas, caldos, guisos. Se cree que también tiene propiedades antisépticas, depurativas, diuréticas, digestivas, laxantes y desinflamatorios (SADER, 2022). Es considerado un alimento de alto valor ya que es bajo en grasas, calorías y colesterol; además proporciona vitaminas A y C, es alto en fibra y minerales. En la Tabla 1 podemos observar una comparación de diferentes autores respecto a la composición proximal de las principales variedades de jitomate (Saladett, Riñón y Bola), mismas que son las principales distribuidas en mercados y centrales de abasto en el Estado de Guanajuato y más específicamente en la ciudad de Celaya. Se puede observar que mayoritariamente los jitomates están compuestos de agua, seguido por los hidratos de carbono y la composición en ceniza, proteína, lípidos y fibra menor al 1%, en la mayoría de los casos, sin generar gran diferencia significativa.

Tabla 1 Comparación de proximales por diferentes autores.

<i>Propiedad</i>	<i>Composición % ¹</i>	<i>Composición % ²</i>	<i>Composición g/100g ³</i>
<i>Humedad</i>	92-95	91-94	95.11
<i>Ceniza</i>	-	0.30-0.50	0.90
<i>Carbohidratos</i>	4.30	3-4.20	-
<i>Proteína</i>	0.60	0.70-1.10	0.18
<i>Lípidos</i>	0.20	0.0-0.63	0.70
<i>Fibra</i>	1.50	0.50-1.50	23.54

Obtenido de ¹ (Manivel Chávez, 2011), ² (Alvarado Ortega & Hernández Castillo, 2005) y ³ (Trujillo Hernández, 2011).

Además, el jitomate contribuye de una forma significativa al suministro de antioxidantes en las dietas, proporcionando Vitamina C, licopeno, fenólicos, flavonoides y β-caroteno, los cuales ayudan a eliminar los radicales libres con su efecto barrido. Se conoce evidencia sobre la prevención de diferentes cánceres como de pulmón, estómago, próstata, de mama, cavidad oral, páncreas, esófago; entre otros, además también previene enfermedades cardiovasculares; propiedades que se le atribuyen a sus componentes antioxidantes (Tilahun, 2017). Estos carotenos son los que les confieren el color rojo, amarillo o naranja a diferentes tipos de futas y verduras, siendo el licopeno el que se encuentra en toronjas, sandías y pimientos rojos; además del jitomate (Candelas Cadillo, Alanís Guzmán, & Río Olague , 2006). Estos carotenoides se encuentran dentro de la clasificación de los lípidos y son insolubles en agua y tienen consistencia aceitosa (Alvarado Ortega & Hernández Castillo, 2005). El contenido de este licopeno en los jitomates se puede variar por la maduración, en jitomates más rojos se ha encontrado una concentración de 50 mg/kg, mientras que en las variantes amarillas se han encontrado concentraciones de 5 mg/kg; por otra parte, en las variedades más comunes se encuentran concentraciones de 3 mg/100g hasta 12.2 mg/100g en la fruta ya madura (Candelas Cadillo, Alanís Guzmán, & Río Olague , 2006).

TEORÍA

El jitomate es un cultivo muy importante tanto económicamente como nutrimental, en México representa desarrollo en la agricultura generando comercio y empleos, además de formar parte de

la canasta básica alimenticia, se usa en salsas, jugos, ensaladas y provee diferentes vitaminas, así como carotenos que son de principal interés por que elimina los radicales libres que se generan por diferentes factores, principalmente por factores ambientales. Sin embargo, existen varios factores como efectos ambientales, las condiciones de cultivo, madurez y/o almacenamiento que afectan la composición del jitomate. Después de la cosecha, la temperatura es uno de los factores más importantes que afectan significativamente los procesos biológicos, es por esto que se puede cultivar en diferentes etapas de madurez, cuando la fruta ha alcanzado la madurez completa o esperando a que su maduración sea postcosecha, siendo esta última la primordial para los jitomates que llegarán al mercado, ya que los que son cosechados maduros no soportan el manejo y transporte necesarios para trasladarlos hasta el consumidor (Manivel Chávez, 2011). Según la FAO este factor puede provocar que se desperdicie hasta el 17.78% de jitomate en las centrales de abasto en lugares como las costas caribeñas mexicanas. (FAO, 2013). Una forma de detener su maduración y evitar la descomposición, es la deshidratación, misma que desde la antigüedad se ha utilizado en alimentos para preservarlos; en el caso del jitomate, que es altamente perecedero, por su contenido de humedad mayor al 90%, la deshidratación confiere una extensión de su vida de anaquel, al disminuir su actividad enzimática y la capacidad de diferentes microorganismos para desarrollarse en el alimento (Ochoa Reyes , y otros, 2013).

Se considera que el jitomate tiene propiedades higroscópicas, es decir, tiene capacidad para absorber la humedad del medio (Díaz Ortiz, 2005). La complejidad de la estructura del jitomate se confiere en la diversidad de propiedades, las paredes del mismo se asemejan a materiales fibrosos, mientras que las pulpas (donde se concentran las semillas) se asemejan más a un material no poroso, por lo tanto, las curvas de secado se pueden ver afectadas, ya que el agua que se encuentra más disponible ya fue evaporada y la humedad debe ser transportada desde el interior hasta la superficie, sin embargo, se da un cambio estructural en la superficie, generando una corteza dura y contraída (Hawlder M, Uddin M, Ho J, & Teng A, 1990), conocida como capa entérica. Al aumentar el área de contacto se logra una liberación más rápida de la humedad, con métodos mecánicos como los son rebanando, perforando o triturando el jitomate (Rakjumar, Kulanthaisami, Raghavan, Gariépy, & Orsat, 2007).

Por otra parte, como se puede observar en la Figura 1, el licopeno está conformado por 40 átomos de carbono, con fórmula química $C_{40}H_{56}$, no presenta anillos cíclicos poseyendo un gran número de dobles enlaces (once), mismos que le confieren su actividad antioxidante (Ordóñez, Balanza, Martín, & Flores, 2009). Por otra parte, como se puede observar en la Figura 2.1, el licopeno está conformado por 40 átomos de carbono, con fórmula química $C_{40}H_{56}$, no presenta anillos cíclicos poseyendo un gran número de dobles enlaces (once), mismos que le confieren su actividad antioxidante (Ordóñez, Balanza, Martín, & Flores, 2009). En comparación, genera que esta actividad antioxidante sea mayor a los β -carotenos en un doble y diez veces más que el α -tocoferol (Manivel Chávez, 2011). Naturalmente el licopeno se encuentra ligado en su forma isomérica *trans* a la matriz del fruto, lo que hace que su absorción no sea tan eficaz, absorbiéndose únicamente entre el 10% y el 30%, mientras que el restante es expulsado. (Cruz Bojórquez, González Gallego, & Sánchez Collado, 2013).

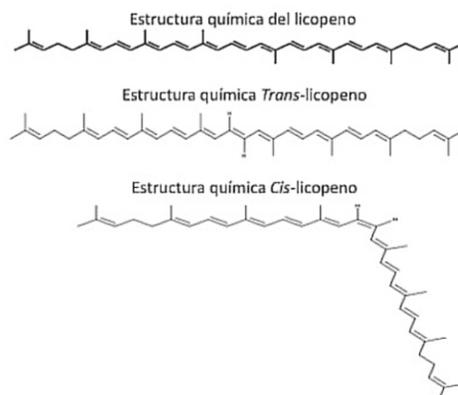


Figura 1 Estructura química del licopeno y sus isómeros.

Obtenido de (Herrera Covarrubias, Fernández Pomares, Aranda Abreu, Domínguez Ortiz, & Hernández Aguila, 2007)

La estabilidad de los carotenoides se puede ver afectada por diversos factores físicos y químicos, como las temperaturas elevadas, exposición a la luz, al oxígeno y a pH extremos, especialmente (Ordóñez, Balanza, Martín, & Flores, 2009). Existe evidencia sobre la consecuencia que el efecto térmico podría causar en el licopeno, si bien, se puede generar una degradación del compuesto, dando por resultado aldehídos y cetonas que proporcionan un color menos intenso y sabor desagradable al gusto; así como cambios químicos con puntos de fusión bajos y coeficientes de extinción pequeños (Candelas Cadillo, Alanís Guzmán, & Río Olague, 2006). Por otra parte, someter al jitomate a calor genera un rompimiento de la matriz licopeno con el tejido de la fruta, logrando que su disponibilidad sea mayor y que la forma isomérica se transforme a *cis*, aumentando su biodisponibilidad (Cruz Bojórquez, González Gallego, & Sánchez Collado, 2013), además se propone que esta isomerización tenga mejor adherencia a las lipoproteínas transportadoras, por su estructura química (Herrera Covarrubias, Fernández Pomares, Aranda Abreu, Domínguez Ortiz, & Hernández Aguila, 2007).

Se han hecho experimentos para medir la cantidad de licopeno en sangre, mediante el consumo de jitomate en diferentes presentaciones, la primera variante siendo solo jitomate, el segundo jitomate con aceite y el tercer jitomate cocinado complementado con aceite. Los resultados mostraron que la concentración de licopeno en sangre fue mayor en la tercera variante, seguido por la segunda y finalizando con la primera, siendo esta última la que mayor diferencia significativa se encontró (Perdomo, Cabrera Fránquiz, Cabrera, & Serra-Majem, 2010).

Para finalizar, la deshidratación a temperaturas altas puede reducir el contenido de nutrientes, con ello los azúcares se degradan induciendo una caramelización (Ochoa Reyes, y otros, 2013). De la degradación de los monosacáridos se generan dos compuestos que pueden conferir un aspecto más café y son los que le dan el sabor dulce al alimento; en el caso de las pentosas se derivan los compuestos furfurales, mientras que en las hexosas se degradan en 5-hidroximetil-2-furfural (HMF) (Martínez, Rodríguez, York, Preston, & Ingram, 2000).

PARTE EXPERIMENTAL

El jitomate fresco se compró cada día en la central de abastos de Celaya, Guanajuato, México; mientras que el residuo de jitomate se nos fue obsequiado por los mismos comerciantes, mismo que antes de ser sometido a las diferentes metodologías fue seleccionado, considerando evitar cualquier indicio de presencia microbiana (bacteriana o fúngica), así como descartar las zonas del jitomate o

aquellos que estuviesen mallugados hasta el punto de generar un puré. Aquellos que estuviesen limpios y con firmeza considerable se lavaron con Hipoclorito de sodio al 1%. Los análisis proximales se realizaron mediante las metodologías AOAC. El licopeno se midió mediante la técnica de (Sadler, Davis, & Dezman, 1990) & (Ordóñez, Balanza, Martín, & Flores, 2009); se pesó la muestra y se le agregó una solución de hexano, acetona y etanol (2:1:1), se agitó durante 30 min y se separó la fase no polar con agua destilada, se midió a 472 nm en un espectrofotómetro. Los furanos (HMF) se determinaron mediante la metodología de (Martínez, Rodríguez, York, Preston, & Ingram, 2000), se pesó la muestra y se diluyó en agua destilada, se separó el extracto del sobrenadante y se midió a 284 nm y 320 nm.

RESULTADOS

Los resultados de los proximales (humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra y carbohidratos) se muestran en la Tabla 2, donde se puede observar que no hay diferencia significativa en la composición química de ambos.

Tabla 2 Comparación de los proximales en residuo de jitomate y jitomate fresco.

Proximal	Residuo (%)	Fresco (%)
Humedad	95.65	94.93
Ceniza	0.56	0.75
Proteína	0.03	0.04
Grasa	0.11	0.12
Fibra	8.81×10^{-5}	8.33×10^{-5}
Carbohidratos	99.28	99.08

En la Figura 2 se muestra el isoterma de secado de residuo de jitomate, donde la temperatura que tardó más en llegar en un equilibrio fue la de 70°C, como lo esperado, que fue la temperatura de 70°C con un tiempo de 12 h. Hubo una diferencia de 2 h por cada diferencia de temperatura. En la Figura 3 se muestra el isoterma de secado en el jitomate fresco, al igual que en el residuo, la temperatura que más tiempo le llevó en llegar al equilibrio fue la de 70°C con un tiempo de 10 h, al igual también hubo una diferencia de dos horas entra cada temperatura. El jitomate fresco a 90°C demostró tener el menor tiempo siendo de 6 horas. Todos los isotermas llegaron a una cantidad de agua sobre cantidad de masa seca menor al 0.2 kg.

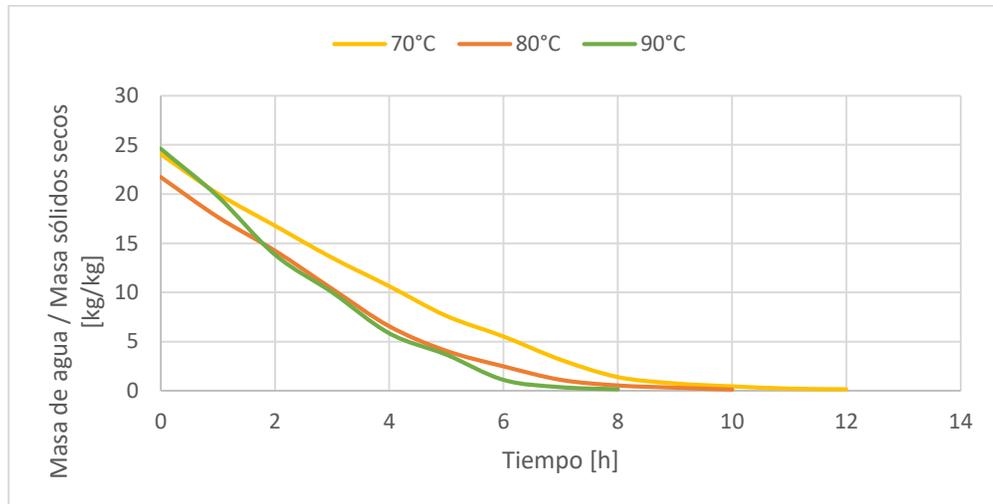


Figura 2 Isotherma en residuo de jitomate.

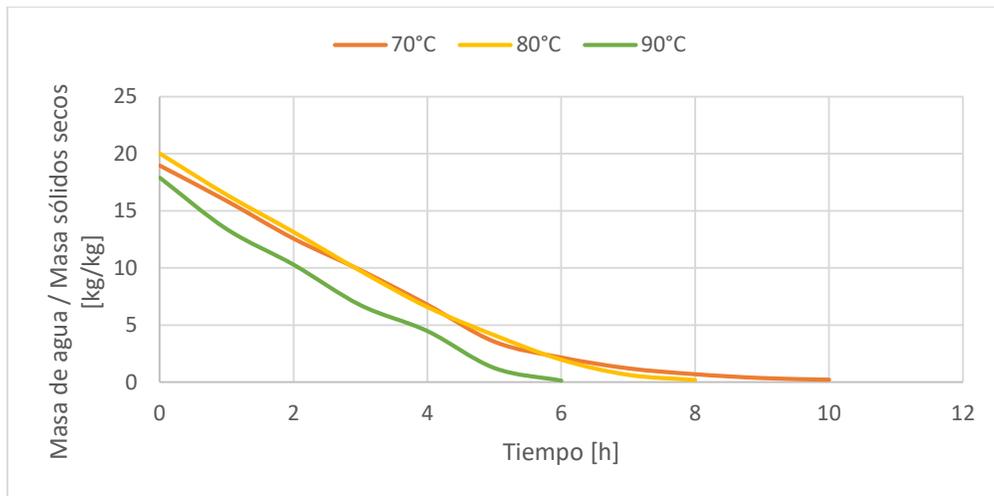


Figura 3 Isothera en jitomate fresco.

En la Figura 4 se grafica el contenido de licopeno en ambos tipos de jitomate, en el residuo de jitomate se aprecia un decremento conforme aumenta la temperatura, al contrario que en el jitomate fresco, donde se observa un aumento mientras aumentó la temperatura.

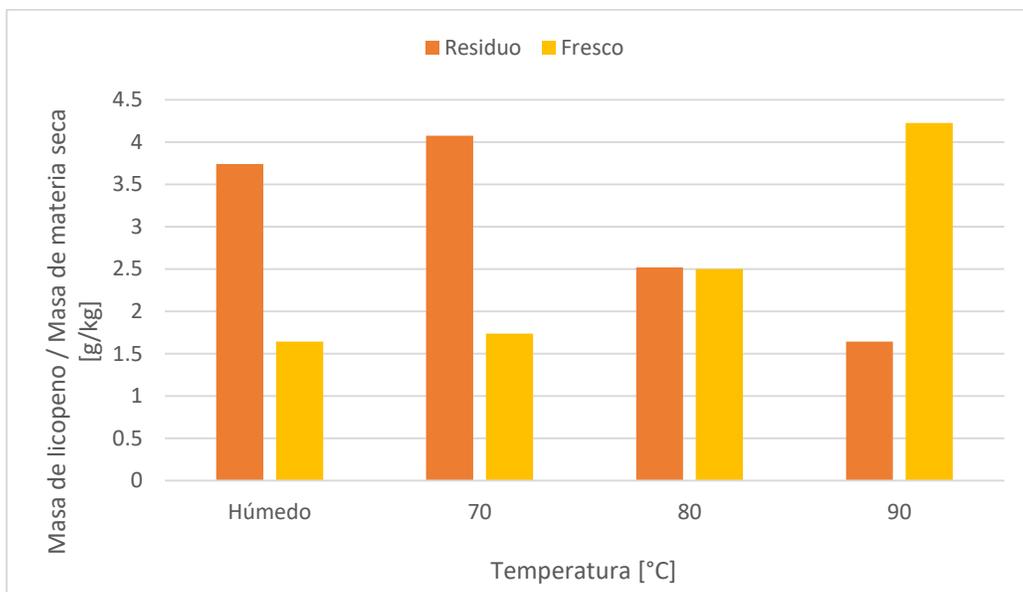


Figura 4 Gráfica de licopeno en residuo y fresco.

En la Figura 5 se muestra la gráfica del contenido de Furanos y HMF en las muestras de jitomate a las diferentes temperaturas. En ambos jitomates el contenido de furanos aumentó conforme aumentó la temperatura, sin embargo, el contenido de furanos en los jitomates húmedos es bastante alto, sobre todo en el residuo de jitomate, en el caso del jitomate fresco solamente el jitomate a 90°C sobrepasó la concentración de furanos respecto al jitomate húmedo. En el caso del residuo de jitomate ninguna temperatura tiene concentraciones por encima del jitomate residual húmedo.

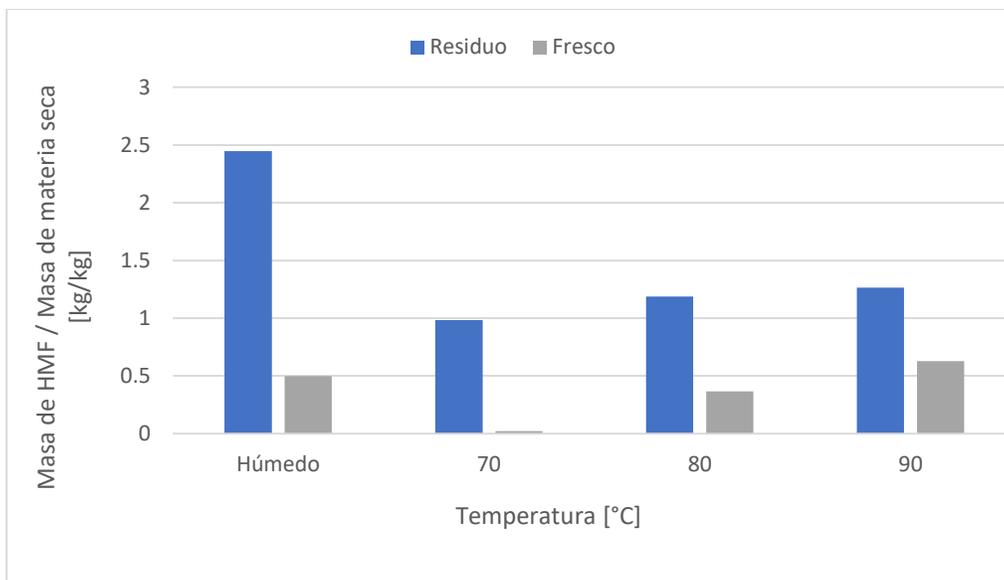


Figura 5 Gráfica de HMF en residuo y fresco.

CONCLUSIONES

No hay diferencia significativa en la composición proximal entre el residuo de jitomate y el jitomate fresco. La diferencia de tiempos entre los isoterma de residuo de jitomate y el jitomate fresco se pueden concluir por la diferencia de humedad en los jitomates, siendo menor en el fresco.

El contenido de licopeno sí aumentó en la temperatura más baja en comparación con la cantidad de licopeno, demostrando que el carotenoide se libera para mejorar su absorción, sin embargo, en las otras dos temperaturas se dio una degradación de este. Muy por el contrario, el contenido de licopeno aumentó conforme aumentó la temperatura, esto se podría explicar como un proceso de maduración, al ser jitomates que no han alcanzado su punto más alto de licopeno.

Los furanos sí aumentaron conforme aumentó la temperatura, en ambos jitomates, sin embargo, no son concentraciones muy altas, de hecho, el residuo de jitomate en húmedo es el que representa mayor contenido de HMF, es probable que la disminución se diera por un proceso de volatilidad al ser compuestos degradados.

BIBLIOGRAFÍA

Alvarado Ortega, J. F., & Hernández Castillo, J. J. (2005). Características físico-químicas de las variedades de tomate Bola y Saladett y cultivares criollo tipo Riñon. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Tulancingo de los Bravo, Hidalgo. Obtenido de

<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/516/Caracteristicas%20fisico%20quimicas%20tomate%20bola.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Calderón Chávez, S., & Cárcamo Solís, M. (2018). Diversificación de la exportación de jitomate *Solanum Lycopersicum* a otros mercados . Jóvenes en la ciencia, 4(1), 1762-1766. Obtenido de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2568/1924>

Candelas Cadillo, M. G., Alanís Guzmán, M. G., & Río Olague , F. (19 de Julio-Diciembre de 2006). Cuantificación de licopeno y otros carotenoides en tomate y polvo de tomate. Revista Mexicana de Agronegocios, X(19). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/141/14101911.pdf>

CESAVEG. (2010). Gobierno del Estado. Obtenido de https://www.academia.edu/14439253/Campa%C3%B1a_Manejo_Fitosanitario_del_Jitomate_Manual_de_Plagas_y_Enfermedades_en_Jitomate

Cruz Bojórquez, R. M., González Gallego, J., & Sánchez Collado, P. (2013). Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno . SciElo. doi:10.3305/nh.2013.28.1.6302

Cuesta Trejo , A. (2007). El cultivo del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro, División de Agronomía, Coahuila. Obtenido de [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/EL%20CULTIVO%20DE%20L%20TOMATE,\(Lycopersicon%20esculentum%20Mill.\)..pdf?sequence=1#:~:text=El%20tomate%20\(Lycopersicon%20esculetum%20mill\)%20es%20una%20planta%20originaria%20de,y%20abunda](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/EL%20CULTIVO%20DE%20L%20TOMATE,(Lycopersicon%20esculentum%20Mill.)..pdf?sequence=1#:~:text=El%20tomate%20(Lycopersicon%20esculetum%20mill)%20es%20una%20planta%20originaria%20de,y%20abunda)

Díaz Ortiz, J. E. (2005). Propuesta metabólica para determinar el potencial de humedad de un material granular a partir de la humedad relativa. Ingeniería y Competitividad, 7(1), 73-79. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/2913/291323470007.pdf>

FAO. (2013). FAOSTAT. Obtenido de <https://www.notion.so/FAOSTAT-b316220509a74d5f9179df82455e8372>

Hawlder M, N. A., Uddin M, S., Ho J, C., & Teng A, B. (21 de November de 1990). Drying characteristics of tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 14(4), 259-268. doi:10.1016/0260-8774(91)90017-M

Herrera Covarrubias, D., Fernández Pomares, C., Aranda Abreu, G. E., Domínguez Ortiz, M. Á., & Hernández Aguila, M. E. (2007). El licopneo y su papel en la prevención del cáncer de próstata. *Neurobiología*. Obtenido de <https://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2013/8/Herrera/HTML.html>

InfoAgro. (18 de Diciembre de 2019). Importancia económica del tomate en México. Obtenido de Toda la Agricultura, ahora en sus manos: <https://mexico.infoagro.com/importancia-economica-del-tomate-en-mexico/>

Ironika. (2016). El origen del tomate, su distribución y descubrimiento. Obtenido de <https://tomatecanario.es/origen-del-tomate/>

Long, J. (1995). De Tomates y Jitomates en el siglo XVI. (É. D. García, Ed.) *Estudios de cultura Náhuatl* (25), 239-252. Obtenido de <https://nahuatl.historicas.unam.mx/index.php/ecn/issue/view/5834>

Manivel Chávez, R. A. (2011). Determinación de la cantidad de licopneo y firmeza mediante el uso de pruebas no destructivas para evaluar el proceso de maduración en fruto de jitomate (*Lycopersicon Esculentum*) variedad Saladette. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán. Obtenido de http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1993/FQFB-M-2011-0022.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Martínez, A., Rodríguez, M. E., York, S. W., Preston, J. F., & Ingram, L. O. (2000). Use of UV absorbance to monitor furans in dilute acid hydrolysates of biomass. *Biotechnol*, 16, 637-641.

Ochoa Reyes, E., Ornelas Paz, J. J., Ruiz Cruz, S., Ibarra Junquera, V., Pérez Marínez, J., Guevara Arauza, J. C., & N, A. C. (2013). Tecnologías de deshidratación para la preservación de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill). *Ciencias Biológicas y de la Salud*, XV(2), 39-46.

Ordóñez, A. L., Balanza, M. E., Martín, F. R., & Flores, C. A. (2009). Estabilidad del carotenoide licopeno en tomates en conserva. *SciELO Alimentos y Biotecnología*, 20(4), 31-37. doi:10.1612/inf.tecnol.4126it.08

Perdomo, F., Cabrera Fránquiz, F., Cabrera, J., & Serra-Majem, L. (2010). Influencia del procedimiento culinario sobre la biodisponibilidad. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 152-1246. doi:10.3305/nh.2012.27.5.5908

Porporatto, M. (s.f.). Importancias. (ezeic, Editor) Obtenido de <https://importancias.com/tomate/>

Rakjumar, P., Kulanthaisami, S., Raghavan, G. S., Gariépy, Y., & Orsat, V. (2007). Drying Kinetics of Tomato Slices in Vacuum Assisted Solar and Open Sun. (L. Taylor & Francis Group, Ed.) *Drying Technology*, 25(7), 1349-1357. doi:10.1080/07373930701438931

SADER. (22 de Marzo de 2022). El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-jitomate-hortaliza-mexicana-de-importancia-mundial?idiom=es>

Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990).apid Extraction of Lycopene and B-Carotene from Reconstituted Tomato Paste and Pink Grapefruit Homogenates. *Journal of Food Science*, 55(5), 637-641.

SAGARPA. (2017). Jitomate Mexicano. Secretaría de Agricultura. Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>

SIAP. (2021). SAGARPA. Obtenido de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Tilahun, S. P. (30 de April de 2017). Effect of ripening conditions on the physicochemical and antioxidant properties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Food science and biotechnology*, 26, 476-479. doi:<https://doi.org/10.1007/s10068-017-0065-7>

Trujillo Hernández, C. A. (2011). Determinación de la fracción indigerible y fibra dietética en frutas y verduras de mayor consumo en México. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec, Moleros. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/13340/Tesis%202011%20Cesar%20Arnulfo%20Trujillo%20Hernández.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Yara. (2023). Producción mundial de tomates. Obtenido de *Nutrición vegetal: Tomate*: <https://www.yara.com.mx/nutricion-vegetal/tomate/produccion-mundial-de-tomates/>

RELACIÓN DEL OZONO COMO BIOESTIMULANTE EN EL CULTIVO DE TOMATE BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Oscar Gilberto Alaniz Villanueva¹, Luis Ramon Castillo Mata ², Merit Cisneros González ² y Ixchel Abby Ortiz Sánchez ²

¹Tecnológico Nacional de México Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana,

²Tecnológico Nacional de México Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana.

ita1_72@hotmail.com.

RESUMEN

El tomate es el cultivo más exportado por México con 1.5 millones de toneladas anuales que equivale al 50% de la producción del país, ocupando el décimo lugar mundial produciendo 3,433,567 toneladas siendo el 1.63% de la producción total de tomate. El Estado de Durango produce alrededor de 49,206 toneladas anuales, ocupando el tercer lugar en productos de exportación en el país. Las plantas han generado a lo largo de su historia grandes enemigos en forma de insectos, arañas, hongos, virus y bacterias, mismas que han generado resistencia al uso de agroquímicos, y aumentado su residualidad en cuerpos de agua y en los propios cultivos. La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, así como en el área de invernaderos del Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana. El objetivo de este trabajo de investigación fue, la validación de prototipo de producción de ozono y su efecto de bioestimulante en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Se estableció el cultivo de tomate variedad Benedetti en bolsas tipo vivero, se llevó a cabo bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial, con cuatro tratamientos y 20 repeticiones a doble tallo, hasta llegar a 16 racimos, teniendo como variables de respuesta, diámetro polar-ecuatorial, peso de fruto, grados Brix, químico proximal, y ozono al 0.90 - 0.98 partes por millón. Los datos se evaluaron con un ANOVA, y se aplicaron pruebas de medias Tukey ($P \leq 0.05$). Teniendo como resultado para la variable grados Brix 5.5 en el Tratamiento 1 con respecto al Tratamiento 2 con 4.5 grados brix, y los Tratamientos 3 y 4 con 3.0-3.5 de grados brix respectivamente. En la variable químico proximal el Tratamiento 4 cuenta con el nivel más alto con 12.36 % de proteína cruda (PC), seguido del Tratamiento 1 con 10.93 % de PC. Mediante el uso del ozono se logra incrementar la producción entre un 15% y un 40%, así como también una mayor calidad en el producto, una minimización de costos de descontaminación y enriquecimiento de suelos. Todas las reacciones de oxidación de ozono pierden uno de sus átomos de oxígeno y se modifica en oxígeno molecular, oxigenando las raíces de las plantas, previniendo plagas y enfermedades y mejorando su calidad.

INTRODUCCIÓN

México produce tomate casi todo el año y al menos en 14 estados con clima un tanto diverso se ha optado por la agricultura protegida, con alta y mediana tecnología como en casas sombra e invernaderos tecnificados. Los estados productores que se destacan son: Sinaloa, Baja California, Sonora, Durango. Aunque también dicha tecnología ha proliferado en estados como: Colima, Hidalgo, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí, Jalisco, Zacatecas, Coahuila, Guanajuato, Oaxaca y Chiapas. Es la hortaliza mundialmente conocida como tomate, pertenece a la familia de las solanáceas. El prefijo “ji” del término jitomate, indica rojo en lengua náhuatl. Existen una gran variedad de especies como: bola, cherry o cereza, guaje o saladette, jitomatillo, entre otras.

A nivel mundial la producción del tomate, basada en datos estadísticos del 2022 es de 205,535,275 toneladas. China produce 50,125,055 toneladas que es equivalente al 27.75% ocupando el primer lugar en producción mundial. Como segundo lugar está la India con una producción de 17,500,000 toneladas lo cual equivale a un 8.29% del total y en tercer lugar esta Estados Unidos con 13,206,950 toneladas que representa el 6.26% de la producción mundial. México tiene el décimo lugar produciendo 3,433,567 toneladas siendo el 1.63% de la producción total de tomate. El Estado de Durango produce alrededor de 49,206 toneladas anuales, ocupando el tercer lugar en productos de exportación en el país. El tomate es el cultivo más exportado por México con 1.5 millones de toneladas anuales que equivale al 50% de la producción del país.

Actualmente, en la agricultura se están buscando nuevos productos totalmente naturales, los cuales permitan crecer y proteger a los cultivos de enfermedades y plagas, dado que las plantas han tenido a lo largo de su historia grandes enemigos en forma de insectos, arañas, hongos, virus y bacterias. Mismas que han generado resistencia al uso de agroquímicos y aumentado su residualidad en cuerpos de agua y en los propios cultivos. Una alternativa ante esta problemática es el uso de ozono (O₃) en el cultivo de tomate, ya que este transforma el agua en un desinfectante poderoso sin dañar el suelo. Mediante el empleo del agua ozonificada (la cual se basa principalmente en la descomposición del ozono en oxígeno) que llega hasta la raíz, se eliminarán bacterias, virus, hongos, entre otros microorganismos, así generando un mejor desarrollo en la planta y reduciendo costos en agroquímicos y obteniendo un incremento en la producción.

Por lo anterior, en el presente trabajo se propone la evaluación y validación de un prototipo de producción de ozono y su efecto de bioestimulante en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Además de determinar si el ozono puede sustituir parcial o totalmente a los agroquímicos en la producción de tomate.

TEORÍA

El origen del género *Lycopersicum* se localiza en la región Andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos (Esquinas *et al.*, 2001). Corominas en (1990) menciona que la llegada de los españoles a América, el tomate formaba parte ya de los pequeños huertos de hortalizas del área Mesoamericana, sin que su importancia económica fuera grande. Era una hierba más en los cultivos. Tanto el tomate rojo (*Lycopersicum*) como el tomate de cascara (*Physalisspp*) fueron introducidos a Europa, se fue extendiendo de una manera impresionante, mientras que el tomate de cascara (tomatillo) quedó marginado o se dejó de cultivar, como ocurrió en España. Aunque probablemente a ello se contribuyeron las características morfológicas del fruto y formas de consumo (Montes *et al.*, 1992). Con el paso del tiempo, el tomate se fue integrando en la gastronomía italiana, usándose ampliamente en pizzas, ensaladas, salsas y guisos. Mientras, que en la mayoría de los otros países se usó solo como planta ornamental, por sus flores (Hernández, 1790). Márquez (2006) menciona que después de viajar más de mil años, el tomate finalmente se ha propagado a los seis continentes y es en Estados Unidos donde es el vegetal más procesado.

PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal y área de invernaderos, del Tecnológico Nacional de México Campus instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, ubicado en la carretera Durango-México kilómetro 22.5 en el Ejido, Villa Montemorelos, Durango.

Se estableció el cultivo de tomate variedad Benedetti en bolsas tipo vivero, en un invernadero pasivo tipo sierra de 8 x 20, bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial. Se consideraron cuatro tratamientos Cuadro 1, y 20 repeticiones a doble tallo, hasta llegar a 16 racimos, teniendo como variables de respuesta, diámetro polar-ecuatorial, peso de fruto, grados Brix, químico proximal, y ozono al 0.90 - 0.98 partes por millón. Los datos se evaluaron con un ANOVA y se aplicaron pruebas de medias Tukey ($P \leq 0.05$).

Cuadro 1. Tratamientos establecidos.

T1	Biokomplet® + Té de compost + Ozono
T2	NitroBac Plus ® + Té de compost + Ozono
T3	Biokomplet ®+ Té de compost
T4	NitroBac Plus ®+ Té de compost

Biocomplet y NitroBac son productos de la empresa AgriBest®

Manejo Agronómico

Tutorado

Se llevó a cabo después del trasplante ya cuando la planta presentó alrededor de 25 a 30 cm. de altura, para mantener la planta erguida y evitar que sus hojas y frutos se pongan en contacto con el suelo. Utilizando la técnica apropiada de tutorado como menciona Robinson (2014), para que el espaciamiento sea ideal entre hileras, dependiendo si el tipo de tutorado es español u holandés.

Riego

Meza, (2000) menciona que la aplicación del riego para el cultivo de tomate debe ser cuidadosa, la sequía como el exceso de agua repercuten en la calidad y producción del fruto. Se utilizó un sistema de riego tipo araña, con salida de cuatro agujas, siendo una por planta.

Poda

En base a Jaramillo *et al.* (2006) se requiere realizar la poda de la planta, con el fin de permitir mejores condiciones, para aquellas partes que quedan en la planta y a la vez eliminar aquellas partes de la planta que no tienen incidencia de cosecha y que pueden consumir energía necesaria para lograr frutos de mayor tamaño y calidad.

Fertilización.

Las aplicaciones de Té de compost se iniciaron al tercer día del trasplante, a una dosis de 50 ml por unidad experimental al total de los tratamientos llegando a 100 ml al final del proyecto, en la misma dosis se aplica Té de compost + Ozono cada 8 días de manera foliar (0.90 - 0.98 partes por millón). La ozonificación se realizó de forma directa con un ozonificador conectado a la red eléctrica durante 10 diez minutos, logrando ozonificar el 50% de la dosis a aplicar y el otro 50% es cubierto por Té de compost.

RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados del análisis de varianza del estudio realizado en el cultivo de tomate relacionados con el desarrollo de la planta, rendimiento y calidad de fruto.

El ANOVA para las variables de desarrollo de planta muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos, y en el Cuadro 1, se muestran los resultados de las pruebas de media Tukey ($\alpha=0.05$) respecto al desarrollo de la planta.

En lo referente a la altura de la planta Cuadro 2. Rodríguez *et al.*, (1998) indican que una mayor altura causa mayor número de hojas y de clorofila. El incremento en número de hojas aumenta la fotosíntesis total, lo que redundará en aumento del peso de fruto y consecuentemente en rendimiento.

Cuadro 2. Resultados de las pruebas de media Tukey ($\alpha=0.05$) de la variable de respuesta en la planta de tomate en el estudio.

Tratamiento	Altura de planta (cm)
1	20.40 b
2	18.10 a
3	17.60 a
4	16.70 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas ($\alpha=0.05$)

Por lo contrario, Resendez *et al.*, (2005) no encontraron gran diferencia en cuanto la altura de planta, al evaluar tomate en sustratos con diferentes compostas en comparación con la fertilización inorgánica. La diferencia en los resultados de este estudio con respecto a los autores mencionados se puede atribuir a la constante aplicación del Té de compost, así como el O₃ durante en el desarrollo del cultivo, genotipo y su manejo en el medio de cultivo.

Rendimiento y Calidad de Fruto

A continuación, se muestran los resultados del análisis de varianza para las variables diámetro polar, diámetro ecuatorial, rendimiento y grados Brix, Cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de media Tukey ($\alpha=0.05$) de las variables de respuesta de cosecha.

Tratamiento	Peso g/fruto	Diámetro polar (mm)	Diámetro ecuatorial (mm)	Grados Brix
1	101.7 ab	74.4 ab	49.9 a	4.5 a
2	103.0 a	77.9 a	50.5 a	5.0 a
3	56.0 c	59.5 c	40.7 bc	3.5 ab
4	88.7 b	68.8 b	47.0 b	4.0 a

Se muestran medias de rangos. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Con base a los resultados del análisis de varianza para las variables rendimiento y calidad de fruto (Cuadro 3), se observa que existe diferencia significativa en las variables de diámetro polar, diámetro ecuatorial y rendimiento, en el caso de la variable grados Brix no se observa diferencias estadísticas entre los tratamientos. Para diferenciar las medias de cada una de las variables de respuesta entre los tratamientos, se realizaron análisis de comparación de medias Tukey respecto a un 95% de confianza.

Rodríguez *et al.* (2001) señala que no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para las variables de rendimiento y calidad, recomendado al final de su estudio que los tratamientos orgánicos son una alternativa económica para el agricultor hoy en día. Rangel *et al.* (2011), señala que obtuvo mayores rendimientos con la solución inorgánica con respecto a las fuentes orgánicas, pero estas últimas se mostraron como una buena alternativa económica para la obtención de resultados muy aceptados de cosecha.

El diámetro polar y Ecuatorial es un factor importante, ya que refleja el tamaño y calidad del fruto y entre los factores que contribuyen significativamente al incremento en volumen de los frutos se encuentran los reguladores de crecimiento como las giberelinas, responsables de la expansión celular (García *et al.* 1997).

Finalmente, el análisis de varianza no presentó diferencia significativa entre los cuatro tratamientos en cuanto a la variable de grados Brix, que es la cantidad de azúcar presente en el fruto. Sin embargo, cabe mencionar que los tratamientos T1, T2 Y T4, se encuentran dentro de los requerimientos óptimos para este parámetro, tanto para la venta en fresco y para la industria, exigen los mercados. Alemán (2010) reporta un valor ligeramente mayor o igual 4 °Brix en tomate lo cual es considerado como adecuado, también Prado (2002) menciona que el contenido de sólidos solubles se sitúa entre 4.5 y 5.5 °Brix, contribuyen los factores agrologicos en el contenido de sólidos solubles en los frutos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de las pruebas implementadas, se puede determinar que el prototipo, del Ing. Jonatan Granados Santos, para la producción de ozono es efectivo, siendo la dosis optima de (0.9 - 0.98 partes por millón). Dicho prototipo, se diseñó específicamente para este fin, considerando algunas características que se requieren dentro de los invernaderos como los son: el fácil manejo y transporte, robustez, bajo mantenimiento, costo accesible y sobre todo seguridad para el usuario.

Esta última característica es primordial, dado que para la generación de ozono se requiere de componentes que generen un alto voltaje el cual es indispensable para poder llevar a cabo este proceso, por lo que se necesita que el sistema este aislado de manera apropiada. Cabe mencionar que el sistema puede ser operado casi por cualquier persona mediante una pequeña capacitación sin que se necesiten conocimientos avanzados de ingeniería eléctrica.

Las dosis óptimas de ozono generadas por el prototipo promovieron plantas más vigorosas por lo que se redujo el uso de agroquímicos. En la variable químico proximal el Tratamiento 4 cuenta con el nivel más alto con 12.36 % de proteína cruda, seguido del Tratamiento 1 con 10.93 % de PC. Siendo esta una nueva línea de investigación del uso del O₃ y su relación nutricional.

El uso de O₃ puede ser considerado como una alternativa económica de bioestimulante en conjunto de fertilizaciones para la producción orgánica en invernadero y con criterios de producción más sustentables, dado que evita la presencia de plagas y enfermedades durante el periodo del cultivo. Lo anterior, es debido a que al aplicarse el ozono se desprende una molécula de oxígeno que funge como vehículo transportador de nutrientes por lo que se disminuyen los costos de producción en comparación con métodos convencionales que se cotizan en dólares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Esquinas, A. J., y F. V. Nuez. (2001). "Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate". In: El Cultivo del Tomate. F. Nuez. Mundi Prensa. España 13-42 pp.
2. Galindo, S. L. (2019). "Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario". REDVET. España. Recuperado de <https://www.redalyc.org>.
3. García-Martínez, J.L Y P. Hedden. (1997). "Gibberellins and fruit development". En: Tomas-Barberan, F.A. y R.J.Robins. (eds). *Phytochemistry of fruit and vegetables*. OxfordSci. Publications, Heidelberg.pp.263-285
4. Hernández, F. (1790). "Historia de las plantas de Nueva España". Universidad Autónoma de México, México: 1942-1946 pp.
5. Jaramillo Noreña, J., Rodríguez, V., Guzman, M., & Zapata, M. (2006). "El cultivo de tomate bajo invernadero". Colombia: CORPOICA.
6. Márquez-Hernández, C., P. Cano-Rios, Y.I. Chew-Madinaveitia, A. Moreno-Rodríguez y N. Rodríguez-Dimas. (2006). "Sustratos en la producción orgánica de tomate cherry bajo invernadero". Rev. Chapingo Ser. Hortic. 12:183-189
7. Meza, A.G. (2000). "Estimación de las necesidades hídricas del tomate". Obtenido de <https://chapingo.mx/terra/contenido/18/1/art45-50.pdf>
8. Montes, S.; Aguirre, J.R. (1992). "Tomate de cascara (*Physalis philadelphica*)". En: Hernández, J.E.; León, J. (Eds.) Cultivos marginados. Otra perspectivas de 1492. FAO, Roma: 115-120 pp.
9. Mula, J. A. (2021). "Cultivo de tomates". Agromatic.es Copyright. Obtenido de <https://www.agromatic.es/cultivo-de-tomates>
10. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2019). FAO. Recuperado de <https://www.fao.org>
11. Robinson, J. (2014). "Hortalizas". Obtenido de <http://www.hortalizas.com/cultivos/tutorado-en-tomates-y-pimientos/>
12. Rodríguez M., N., G. Alcantar G., A. Aguilar S., J.D. Etchevers B. and J. A. Santizo R. (1998). "Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila". Terra 16:135-141.
13. Rodríguez, R., Tavares, R., y Medina, . (2001). "Cultivo moderno del tomate". 2ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. España. 255 p.

14. Zamora,(2016). “El Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* L. Mill.) Bajo Invernadero”, Universidad de Sonora (Departamento de Agricultura y Ganadería)

RELACIÓN DEL OZONO COMO BIOESTIMULANTE EN EL CULTIVO DE TOMATE BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO

Oscar Gilberto Alaniz Villanueva¹, Luis Ramon Castillo Mata ², Merit Cisneros González ² y Ixchel Abby Ortiz Sánchez ²

¹Tecnológico Nacional de México Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana,

²Tecnológico Nacional de México Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana.

ita1_72@hotmail.com.

RESUMEN

El tomate es el cultivo más exportado por México con 1.5 millones de toneladas anuales que equivale al 50% de la producción del país, ocupando el décimo lugar mundial produciendo 3,433,567 toneladas siendo el 1.63% de la producción total de tomate. El Estado de Durango produce alrededor de 49,206 toneladas anuales, ocupando el tercer lugar en productos de exportación en el país. Las plantas han generado a lo largo de su historia grandes enemigos en forma de insectos, arañas, hongos, virus y bacterias, mismas que han generado resistencia al uso de agroquímicos, y aumentado su residualidad en cuerpos de agua y en los propios cultivos. La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, así como en el área de invernaderos del Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana. El objetivo de este trabajo de investigación fue, la validación de prototipo de producción de ozono y su efecto de bioestimulante en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Se estableció el cultivo de tomate variedad Benedetti en bolsas tipo vivero, se llevó a cabo bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial, con cuatro tratamientos y 20 repeticiones a doble tallo, hasta llegar a 16 racimos, teniendo como variables de respuesta, diámetro polar-ecuatorial, peso de fruto, grados Brix, químico proximal, y ozono al 0.90 - 0.98 partes por millón. Los datos se evaluaron con un ANOVA, y se aplicaron pruebas de medias Tukey ($P \leq 0.05$). Teniendo como resultado para la variable grados Brix 5.5 en el Tratamiento 1 con respecto al Tratamiento 2 con 4.5 grados brix, y los Tratamientos 3 y 4 con 3.0-3.5 de grados brix respectivamente. En la variable químico proximal el Tratamiento 4 cuenta con el nivel más alto con 12.36 % de proteína cruda (PC), seguido del Tratamiento 1 con 10.93 % de PC. Mediante el uso del ozono se logra incrementar la producción entre un 15% y un 40%, así como también una mayor calidad en el producto, una minimización de costos de descontaminación y enriquecimiento de suelos. Todas las reacciones de oxidación de ozono pierden uno de sus átomos de oxígeno y se modifica en oxígeno molecular, oxigenando las raíces de las plantas, previniendo plagas y enfermedades y mejorando su calidad.

INTRODUCCIÓN

México produce tomate casi todo el año y al menos en 14 estados con clima un tanto diverso se ha optado por la agricultura protegida, con alta y mediana tecnología como en casas sombra e invernaderos tecnificados. Los estados productores que se destacan son: Sinaloa, Baja California, Sonora, Durango. Aunque también dicha tecnología ha proliferado en estados como: Colima, Hidalgo, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí, Jalisco, Zacatecas, Coahuila, Guanajuato, Oaxaca y Chiapas. Es la hortaliza mundialmente conocida como tomate, pertenece a la familia de las solanáceas. El prefijo "ji" del término jitomate, indica rojo en lengua náhuatl. Existen una gran variedad de especies como: bola, cherry o cereza, guaje o saladette, jitomatillo, entre otras.

A nivel mundial la producción del tomate, basada en datos estadísticos del 2022 es de 205,535,275 toneladas. China produce 50,125,055 toneladas que es equivalente al 27.75% ocupando el primer lugar en producción mundial. Como segundo lugar está la India con una producción de 17,500,000 toneladas lo cual equivale a un 8.29% del total y en tercer lugar esta Estados Unidos con 13,206,950 toneladas que representa el 6.26% de la producción mundial. México tiene el décimo lugar produciendo 3,433,567 toneladas siendo el 1.63% de la producción total de tomate. El Estado de Durango produce alrededor de 49,206 toneladas anuales, ocupando el tercer lugar en productos de exportación en el país. El tomate es el cultivo más exportado por México con 1.5 millones de toneladas anuales que equivale al 50% de la producción del país.

Actualmente, en la agricultura se están buscando nuevos productos totalmente naturales, los cuales permitan crecer y proteger a los cultivos de enfermedades y plagas, dado que las plantas han tenido a lo largo de su historia grandes enemigos en forma de insectos, arañas, hongos, virus y bacterias. Mismas que han generado resistencia al uso de agroquímicos y aumentado su residualidad en cuerpos de agua y en los propios cultivos. Una alternativa ante esta problemática es el uso de ozono (O₃) en el cultivo de tomate, ya que este transforma el agua en un desinfectante poderoso sin dañar el suelo. Mediante el empleo del agua ozonificada (la cual se basa principalmente en la descomposición del ozono en oxígeno) que llega hasta la raíz, se eliminarán bacterias, virus, hongos, entre otros microorganismos, así generando un mejor desarrollo en la planta y reduciendo costos en agroquímicos y obteniendo un incremento en la producción.

Por lo anterior, en el presente trabajo se propone la evaluación y validación de un prototipo de producción de ozono y su efecto de bioestimulante en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Además de determinar si el ozono puede sustituir parcial o totalmente a los agroquímicos en la producción de tomate.

TEORÍA

El origen del género *Lycopersicum* se localiza en la región Andina que se extiende desde el sur de Colombia al norte de Chile, pero parece que fue en México donde se domesticó, quizá porque crecería como mala hierba entre los huertos (Esquinas *et al.*, 2001). Corominas en (1990) menciona que la llegada de los españoles a América, el tomate formaba parte ya de los pequeños huertos de hortalizas del área Mesoamericana, sin que su importancia económica fuera grande. Era una hierba más en los cultivos. Tanto el tomate rojo (*Lycopersicum*) como el tomate de cascara (*Physalis*) fueron introducidos a Europa, se fue extendiendo de una manera impresionante, mientras que el tomate de cascara (tomatillo) quedó marginado o se dejó de cultivar, como ocurrió en España. Aunque probablemente a ello se contribuyeron las características morfológicas del fruto y formas de consumo (Montes *et al.*, 1992). Con el paso del tiempo, el tomate se fue integrando en la gastronomía italiana, usándose ampliamente en pizzas, ensaladas, salsas y guisos. Mientras, que en la mayoría de los otros países se usó solo como planta ornamental, por sus flores (Hernández, 1790). Márquez (2006) menciona que después de viajar más de mil años, el tomate finalmente se ha propagado a los seis continentes y es en Estados Unidos donde es el vegetal más procesado.

PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal y área de invernaderos, del Tecnológico Nacional de México Campus instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, ubicado en la carretera Durango-México kilómetro 22.5 en el Ejido, Villa Montemorelos, Durango.

Se estableció el cultivo de tomate variedad Benedetti en bolsas tipo vivero, en un invernadero pasivo tipo sierra de 8 x 20, bajo un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial. Se consideraron cuatro tratamientos Cuadro 1, y 20 repeticiones a doble tallo, hasta llegar a 16 racimos, teniendo como variables de respuesta, diámetro polar-ecuatorial, peso de fruto, grados Brix, químico proximal, y ozono al 0.90 - 0.98 partes por millón. Los datos se evaluaron con un ANOVA y se aplicaron pruebas de medias Tukey ($P \leq 0.05$).

Cuadro 1. Tratamientos establecidos.

T1	Biokomplet® + Té de compost + Ozono
T2	NitroBac Plus ® + Té de compost + Ozono
T3	Biokomplet ®+ Té de compost
T4	NitroBac Plus ®+ Té de compost

Biocomplet y NitroBac son productos de la empresa AgriBest®

Manejo Agronómico

Tutorado

Se llevó a cabo después del trasplante ya cuando la planta presentó alrededor de 25 a 30 cm. de altura, para mantener la planta erguida y evitar que sus hojas y frutos se pongan en contacto con el suelo. Utilizando la técnica apropiada de tutorado como menciona Robinson (2014), para que el espaciamiento sea ideal entre hileras, dependiendo si el tipo de tutorado es español u holandés.

Riego

Meza, (2000) menciona que la aplicación del riego para el cultivo de tomate debe ser cuidadosa, la sequía como el exceso de agua repercuten en la calidad y producción del fruto. Se utilizó un sistema de riego tipo araña, con salida de cuatro agujas, siendo una por planta.

Poda

En base a Jaramillo *et al.* (2006) se requiere realizar la poda de la planta, con el fin de permitir mejores condiciones, para aquellas partes que quedan en la planta y a la vez eliminar aquellas partes de la planta que no tienen incidencia de cosecha y que pueden consumir energía necesaria para lograr frutos de mayor tamaño y calidad.

Fertilización.

Las aplicaciones de Té de compost se iniciaron al tercer día del trasplante, a una dosis de 50 ml por unidad experimental al total de los tratamientos llegando a 100 ml al final del proyecto, en la misma dosis se aplica Té de compost + Ozono cada 8 días de manera foliar (0.90 - 0.98 partes por millón). La ozonificación se realizó de forma directa con un ozonificador conectado a la red eléctrica durante 10 diez minutos, logrando ozonificar el 50% de la dosis a aplicar y el otro 50% es cubierto por Té de compost.

RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados del análisis de varianza del estudio realizado en el cultivo de tomate relacionados con el desarrollo de la planta, rendimiento y calidad de fruto.

El ANOVA para las variables de desarrollo de planta muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos, y en el Cuadro 1, se muestran los resultados de las pruebas de media Tukey ($\alpha=0.05$) respecto al desarrollo de la planta.

En lo referente a la altura de la planta Cuadro 2. Rodríguez *et al.*, (1998) indican que una mayor altura causa mayor número de hojas y de clorofila. El incremento en número de hojas aumenta la fotosíntesis total, lo que redundará en aumento del peso de fruto y consecuentemente en rendimiento.

Cuadro 2. Resultados de las pruebas de media Tukey ($\alpha=0.05$) de la variable de respuesta en la planta de tomate en el estudio.

Tratamiento	Altura de planta (cm)
1	20.40 b
2	18.10 a
3	17.60 a
4	16.70 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias estadísticas ($\alpha=0.05$)

Por lo contrario, Resendez *et al.*, (2005) no encontraron gran diferencia en cuanto la altura de planta, al evaluar tomate en sustratos con diferentes compostas en comparación con la fertilización

inorgánica. La diferencia en los resultados de este estudio con respecto a los autores mencionados se puede atribuir a la constante aplicación del Té de compost, así como el O₃ durante en el desarrollo del cultivo, genotipo y su manejo en el medio de cultivo.

Rendimiento y Calidad de Fruto

A continuación, se muestran los resultados del análisis de varianza para las variables diámetro polar, diámetro ecuatorial, rendimiento y grados Brix, Cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de media Tukey ($\alpha=0.05$) de las variables de respuesta de cosecha.

Tratamiento	Peso g/fruto	Diámetro polar (mm)	Diámetro ecuatorial (mm)	Grados Brix
1	101.7 ab	74.4 ab	49.9 a	4.5 a
2	103.0 a	77.9 a	50.5 a	5.0 a
3	56.0 c	59.5 c	40.7 bc	3.5 ab
4	88.7 b	68.8 b	47.0 b	4.0 a

Se muestran medias de rangos. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Con base a los resultados del análisis de varianza para las variables rendimiento y calidad de fruto (Cuadro 3), se observa que existe diferencia significativa en las variables de diámetro polar, diámetro ecuatorial y rendimiento, en el caso de la variable grados Brix no se observa diferencias estadísticas entre los tratamientos. Para diferenciar las medias de cada una de las variables de respuesta entre los tratamientos, se realizaron análisis de comparación de medias Tukey respecto a un 95% de confianza.

Rodríguez *et al.* (2001) señala que no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para las variables de rendimiento y calidad, recomendado al final de su estudio que los tratamientos orgánicos son una alternativa económica para el agricultor hoy en día. Rangel *et al.* (2011), señala que obtuvo mayores rendimientos con la solución inorgánica con respecto a las fuentes orgánicas, pero estas últimas se mostraron como una buena alternativa económica para la obtención de resultados muy aceptados de cosecha.

El diámetro polar y Ecuatorial es un factor importante, ya que refleja el tamaño y calidad del fruto y entre los factores que contribuyen significativamente al incremento en volumen de los frutos se encuentran los reguladores de crecimiento como las giberelinas, responsables de la expansión celular (García *et al.* 1997).

Finalmente, el análisis de varianza no presentó diferencia significativa entre los cuatro tratamientos en cuanto a la variable de grados Brix, que es la cantidad de azúcar presente en el fruto. Sin embargo, cabe mencionar que los tratamientos T1, T2 Y T4, se encuentran dentro de los requerimientos óptimos para este parámetro, tanto para la venta en fresco y para la industria, exigen los mercados. Alemán (2010) reporta un valor ligeramente mayor o igual 4 °Brix en tomate lo cual es considerado como adecuado, también Prado (2002) menciona que el contenido de sólidos solubles se sitúa entre 4.5 y 5.5 °Brix, contribuyen los factores agrológicos en el contenido de sólidos solubles en los frutos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de las pruebas implementadas, se puede determinar que el prototipo, del Ing. Jonatan Granados Santos, para la producción de ozono es efectivo, siendo la dosis optima de (0.9 - 0.98 partes por millón). Dicho prototipo, se diseñó específicamente para este fin, considerando algunas características que se requieren dentro de los invernaderos como los son: el fácil manejo y transporte, robustez, bajo mantenimiento, costo accesible y sobre todo seguridad para el usuario. Esta última característica es primordial, dado que para la generación de ozono se requiere de componentes que generen un alto voltaje el cual es indispensable para poder llevar a cabo este proceso, por lo que se necesita que el sistema este aislado de manera apropiada. Cabe mencionar que el sistema puede ser operado casi por cualquier persona mediante una pequeña capacitación sin que se necesiten conocimientos avanzados de ingeniería eléctrica.

Las dosis óptimas de ozono generadas por el prototipo promovieron plantas más vigorosas por lo que se redujo el uso de agroquímicos. En la variable químico proximal el Tratamiento 4 cuenta con el nivel más alto con 12.36 % de proteína cruda, seguido del Tratamiento 1 con 10.93 % de PC. Siendo esta una nueva línea de investigación del uso del O₃ y su relación nutricional.

El uso de O₃ puede ser considerado como una alternativa económica de bioestimulante en conjunto de fertilizaciones para la producción orgánica en invernadero y con criterios de producción más sustentables, dado que evito la presencia de plagas y enfermedades durante el periodo del cultivo. Lo anterior, es debido a que al aplicarse el ozono se desprende una molécula de oxígeno que funge como vehículo transportador de nutrientes por lo que se disminuyen los costos de producción en comparación con métodos convencionales que se cotizan en dólares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Esquinas, A. J., y F. V. Nuez. (2001). "Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate". In: El Cultivo del Tomate. F. Nuez. Mundi Prensa. España 13-42 pp.
2. Galindo, S. L. (2019). "Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario". REDVET. España. Recuperado de <https://www.redalyc.org>.
3. García-Martínez, J.L Y P. Hedden. (1997). "Gibberellins and fruit development". En: Tomas-Barberan, F.A. y R.J.Robins. (eds). *Phytochemistry of fruit and vegetables*. OxfordSci. Publications, Heidelberg.pp.263-285
4. Hernández, F. (1790). "Historia de las plantas de Nueva España". Universidad Autónoma de México, México: 1942-1946 pp.
5. Jaramillo Noreña, J., Rodríguez, V., Guzman, M., & Zapata, M. (2006). "El cultivo de tomate bajo invernadero". Colombia: CORPOICA.
6. Márquez-Hernández, C., P. Cano-Rios, Y.I. Chew-Madinaveitia, A. Moreno-Rodríguez y N. Rodríguez-Dimas. (2006). "Sustratos en la producción orgánica de tomate cherry bajo invernadero". Rev. Chapingo Ser. Hortic. 12:183-189
7. Meza, A.G. (2000). "Estimación de las necesidades hídricas del tomate". Obtenido de <https://chapingo.mx/terra/contenido/18/1/art45-50.pdf>
8. Montes, S.; Aguirre, J.R. (1992). "Tomate de cascara (*Physalis philadelphica*)". En: Hernández, J.E.; León, J. (Eds.) Cultivos marginados. Otra perspectivas de 1492. FAO, Roma: 115-120 pp.
9. Mula, J. A. (2021). "Cultivo de tomates". Agromatic.es Copyright. Obtenido de <https://www.agromatic.es/cultivo-de-tomates>
10. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2019). FAO. Recuperado de <https://www.fao.org>

11. Robinson, J. (2014). "Hortalizas". Obtenido de <http://www.hortalizas.com/cultivos/tutorado-en-tomates-y-pimientos/>
12. Rodríguez M., N., G. Alcantar G., A. Aguilar S., J.D. Etchevers B. and J. A. Santizo R. (1998). "Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila". *Terra* 16:135-141.
13. Rodríguez, R., Tavares, R., y Medina, . (2001). "Cultivo moderno del tomate". 2ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. España. 255 p.
14. Zamora, (2016). "El Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* L. Mill.) Bajo Invernadero", Universidad de Sonora (Departamento de Agricultura y Ganadería)

PSEUDOMONAS OXIDADORA DE COMPUESTOS XENÓBIOTICOS TIPO HIDROCARBUROS Y HERBICIDAS

Verónica Dionicio Hernández¹, Dalia Molina Romero² y Antonino Báez Rogelio³

^{1,2} Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas³ Instituto de Ciencias.

veronica.dionicio@alumno.buap.mx

RESUMEN

La palabra xenobiótico es derivada del griego y significa “foráneo a la vida”, estos compuestos generan efectos tóxicos a la mayoría de los organismos, incluido el hombre [1]. Uno de los xenobióticos muy utilizado por el hombre y que genera problemas ambientales por su mal manejo es el petróleo; en las últimas décadas se han registrado varios derrames de petróleo, por lo que se han buscado nuevas técnicas de limpieza [2]. Los herbicidas son otros contaminantes, estos son utilizados para control de plagas en los cultivos agrícolas. En este trabajo se evaluó la capacidad de *Pseudomonas putida* KT2440 para utilizar a los xenobióticos como fuentes de carbono, ya que esta bacteria porta el plásmido TOL (pWWO), que contiene los genes que codifican enzimas para degradar toluenos y xilenos [3]. En los ensayos de supervivencia bacteriana, se emplearon como fuente de carbono control al citrato de sodio, este tratamiento reportó la mayor población bacteriana con un incrementó de tres órdenes de magnitud durante 96 horas; el hidrocarburo Diésel aumentó dos órdenes de magnitud, la Gasolina aumentó un orden de magnitud (tercer lugar), para el tratamiento con el herbicida Desmonte-4EB la población bacteriano incrementó medio orden de magnitud, en el control negativo (medio de cultivo sin fuente de carbono) la población se mantuvo constante durante todo el experimento y no presentó crecimiento bacteriano, la misma tendencia se observó en el herbicida Humi max. La prueba de Turkey, mostró diferencias significativas en los tratamientos: Humi max- Gasolina y citrato de sodio – Humi max. En el tratamiento control positivo, el citrato de sodio se empleó como fuente de carbono, este compuesto se ha documentado como fuente de carbono y donador de electrones que la bacteria oxida de forma aerobia. La utilización de la Gasolina y Diésel (hidrocarburos) como fuente de carbono para *Pseudomonas* es posible y se puede sustentar, porque el género posee al menos cuatro vías centrales diferentes para el catabolismo de hidrocarburos, como la vía del catecol (cat), vías del protocatecuato (pca), fenilacetato (pha) y homogentisato (hmg). El herbicida Desmonte 4BE incrementó discretamente a la población bacteriana, se podría explicar, porque el componente primario es el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) que pudo ser oxidado por alguna vía catabólica. En los tratamientos Humi max (herbicida) y el control negativo (sin fuente de carbono) no incrementaron la población bacteria, este xenobiótico carece de toxicidad para la bacteria en estas condiciones experimentales, a pesar de ser una mezcla compleja de estructuras aromáticas, ácidos húmicos (AH) y fúlvicos, que contiene grupos fenólicos, cadenas alifáticas con grupos carboxílicos, que podrían ser utilizados como donador de electrones por esta bacteria en condiciones experimentales diferentes.

INTRODUCCIÓN

La palabra xenobiótico es derivada del griego y significa “foráneo a la vida”. Estos compuestos no se producen de manera natural [1], sin embargo, los que son naturales, comprenden un amplio rango de químicos que incluyen metabolitos de plantas, toxinas animales, hidrocarburos naturales, entre otros [2]. En el medio ambiente, el termino xenobiótico va a incluir compuestos provenientes de fábricas de plásticos, crema dental, detergentes, colorantes, teléfonos celulares, desechos del

lavado de carros, zapatos, plantas de tratamiento de aguas residuales y muchos otros procesos [3, 4]. Algunos de estos compuestos se pueden considerar benéficos ya que coadyuvan en la salud, como lo son los anticonvulsivos [5], sin embargo, tienen efectos negativos tanto en humanos como en plantas y animales, porque pueden provocar anomalías neonatales, postnatales y/o disminuir la capacidad reproductiva, son bloqueadores en la fisiología de algunos órganos, como lo es el endocrino [2, 6].

Los hidrocarburos alifáticos (HA) incluyen alcanos, alquinos y cicloalcano, estos son compuestos orgánicos no derivados del benceno. Son conformados por moléculas de carbono e hidrógeno, formando cadenas, que pueden ser abiertas o cerradas. Los HA también se conocen como hidrocarburos saturados alifáticos, los cuales responden a la fórmula general de C_nH_{2n+2} , y su estructura química está constituida por enlaces simples de carbono-carbono y carbono-hidrógeno [7]. Por otra parte, en los hidrocarburos aromáticos están incluidos los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), que contienen moléculas de benceno y son originados principalmente por la combustión incompleta o por la pirolisis de materias orgánicas como lo son aceites, carbón, madera, tabaco [8]. Al ser producto de materia orgánica se distribuyen de manera natural en el ambiente e incluso son bioacumulados por organismos, también contribuyen a la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS), que provocan la oxidación del ADN, en consecuencia, tienen efectos cancerígenos, mutagénicos y teratogénicos en los seres vivos, y en seres humanos puede causar hemotoxicidad [9].

Además, de estos contaminantes, se encuentran también los herbicidas dentro de los compuestos xenobióticos, son sustancias químicas tóxicas para plantas y otros organismos [10]. A los herbicidas se les considera como pesticidas utilizados para matar o controlar la vegetación no deseada (malas hierbas). Normalmente se utilizan en la agricultura, pero también se usan contra las malas hierbas en entornos urbanos (campos deportivos, vías férreas y demás) [11]. Aunque se registran efectos positivos en la agricultura, estos herbicidas causan efectos nocivos en el medio ambiente, debido a la alta persistencia y toxicidad que presentan en el ambiente [12].

Por otra parte, existen una gran variedad de métodos químicos, físicos (lavado de suelo, coagulación, filtración, fotodegradación) y biológicos para la eliminación de metales pesados [13] y disminuir la contaminación del ambiente, entre estos métodos está la Biorremediación que se basa en la degradación, eliminación, alteración o desintoxicación de productos químicos a través de la acción metabólica de bacterias, hongos o plantas [14] además, estos procesos son sustentables y económicos [15].

TEORÍA

Como se mencionó con anterioridad los compuestos xenobióticos difieren considerablemente de los compuestos orgánicos naturales debido a su impacto negativo para el medio ambiente. Sin embargo, *Pseudomonas putida* KT2440 la cual porta el plásmido TOL (pWWO), que contiene los genes que codifican enzimas para degradar toluenos y xilenos [16,17]. Son bacilos ligeramente curvados, con 0.5 – 1.0 μm de longitud, son Gram-negativos, pertenecen al phylum Protobacterias, a la familia de Pseudomonadaceae, la división gammaproteobacteria, al phylum *Proteobacteria* y al género *Pseudomonas*. La movilidad de esta bacteria se debe a la presencia de uno o varios flagelos polares y no forman esporas [18,19, 20]. Estos microorganismos son aeróbicos cuando utilizan al oxígeno como aceptor de electrones; sin embargo, el nitrato tiene la posibilidad de ser un aceptor de electrones alternativo en algunos casos, lo cual permite que el crecimiento se produzca de forma anaeróbica [21]. Bioquímicamente, ha sido caracterizado como bacterias quimiolitoheterotrofas y quimiorganoheterótrofas, que utiliza compuestos inorgánicos como fuente de energía y un rango

limitado de carbohidratos (glucosa, manalosa, manitol, glucanato), junto a sales de ácidos orgánicos como única fuente de carbono (ácido caprico, ácido málico, citrato, ácido fenilcético, octanato y citrato), sin formación de gas [22].

Además de esto, se ha documentado que el género *Pseudomonas* es capaz de degradar hidrocarburos aromáticos y promueve el crecimiento vegetal por medio de la producción de fitohormonas, sideróforos y ACC desaminasa. También son capaces de degradar compuestos xenobióticos (fenol, benceno y tolueno), utilizando estos como fuentes de carbono [23, 24, 25]. Por lo que el objetivo de este estudio es evaluar la capacidad de *P. putida* KT2440 para degradar los diferentes xenobióticos como fuentes de carbono.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la evaluación de la supervivencia bacteriana y degradación de los xenobióticos, se utilizaron como fuente de carbono a los xenobióticos, para la formulación de 50 ml de medio de cultivo líquido MM9 : 50 µl de FeCl₃, 125 µl de Goodies, 5 µl de sales M9, 50 µl de MgSO₄ y 500 µl de la fuente de carbono; para el caso de los hidrocarburos, en cuanto a los herbicidas se colocó una concentración de 12 g/ L [26], se ajustó el pH utilizando ácido fosfórico e hidróxido de sodio al 1M. El medio de cultivo se colocó en matraces para su posterior inoculación con la cepa *P. putida* KT2440. Se establecieron los siguientes tratamientos: 1) Control positivo (fuente de carbono: citrato de sodio 0.1 g), 2) Control negativo (sin fuente de carbono), 3) Gasolina, 4) Diésel, 5) Herbicida Desmorte 4EB, 6) Herbicida Humi max. Las condiciones de incubación fueron: 30°C a 140 rpm.

El monitoreo de la población se evaluó en los siguientes tiempos: 0, 24, 48, 72 y 196 hrs, en donde se tomó una muestra de 100 µl de cada tratamiento para realizar diluciones seriadas de 10⁻¹ hasta 10⁻⁶. Se tomaron muestras de 20 µl de cada dilución por tratamiento y se inocularon en medio Citrato de Simmons sólido con cloranfenicol (100000:1 mg/ ml), por consiguiente, se incubaron 24 horas a 30 °C, y se realizó el conteo de UFC (Unidades Formadoras de colonia) cada 24 horas, hasta las 196 horas. Para evaluar el porcentaje de degradación se tomó otra muestra de 100 µl de cada tratamiento en cada monitoreo, en un tubo eppendorf con 900 µl de agua destilada, para posteriormente fue centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos, seguido de esto se midió el sobrenadante en el espectrofotómetro. Los cambios en el color se determinaron utilizando un espectrofotómetro UV/Visible para medir la absorbancia de cada tratamiento (rango leíble DO= 0.05-0.8), las lecturas se realizaron a 540 nm, se utilizó como muestra blanco el Control Negativo. Las lecturas se realizaron a las 24 y 48 hrs. En todos los experimentos en medio líquido, el grado de decoloración se calculó utilizando la siguiente fórmula [27]:

$$\%D = \frac{A_{ini} - A_{obs}}{A_{ini}} * 100$$

Donde:

D es la Decoloración (%)

A_{ini} es la absorbancia inicial

A_{obs} es la absorbancia observada

RESULTADOS

En el ensayo de la evaluación de la supervivencia bacteriana en distintas fuentes de carbono se observó que en el tratamiento A que tienen como fuente de carbono citrato de sodio fue el tratamiento con la mayor población bacteriana, inició con una población de 5.4 y finalizó con 8.6 log UFC/ml; seguida del hidrocarburo Diésel que aumentó dos órdenes de magnitud (de 6.3 a 8 log UFC/ml), en tercer lugar Gasolina (D) que inició con una población de 7.4 y aumentó a 8.4 log

UFC/ml), para el tratamiento F con el herbicida Desmorte-4EB la población bacteriano incrementó medio orden de magnitud, en el control negativo B (sin fuente de carbono) la población me mantuvo contante durante todo el experimento (5.55 UFC/ml), la misma tendencia se observó en el herbicida Humi max (E) (Fig.1).

Los resultados de la aplicación de la prueba de Turkey, muestran diferencias significativas en 2 comparaciones: Humi max- Gasolina ($p= 0.031 > 0.05$) (E-D) y Positivo – Humi max (B-E) ($p= 0.030 > 0.05$). La cuales son apreciables en la gráfica 1.

Posteriormente se realizó un análisis ANOVA de una vía, en el cual se obtuvieron los siguientes resultados, con un nivel se significancia de $\alpha = 0,05$, presentaron una igualdad de varianzas para el análisis:

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Fuente	5	55,58	11,115	3,16	0,025
Error	24	84,52	3,522		
Total	29	140,09			

Tabla 1. Resultados del análisis de Anova de una vía

La comparación se realizó entre columnas del mismo tratamiento por lo que comparamos la toma de muestras y vemos que no rechazamos la hipótesis inicial ($0,025 < 0,05$), por lo que los promedios tienen una diferencia significativa. Además de que el 39.67% de variación es explicado por la fuente de carbono.

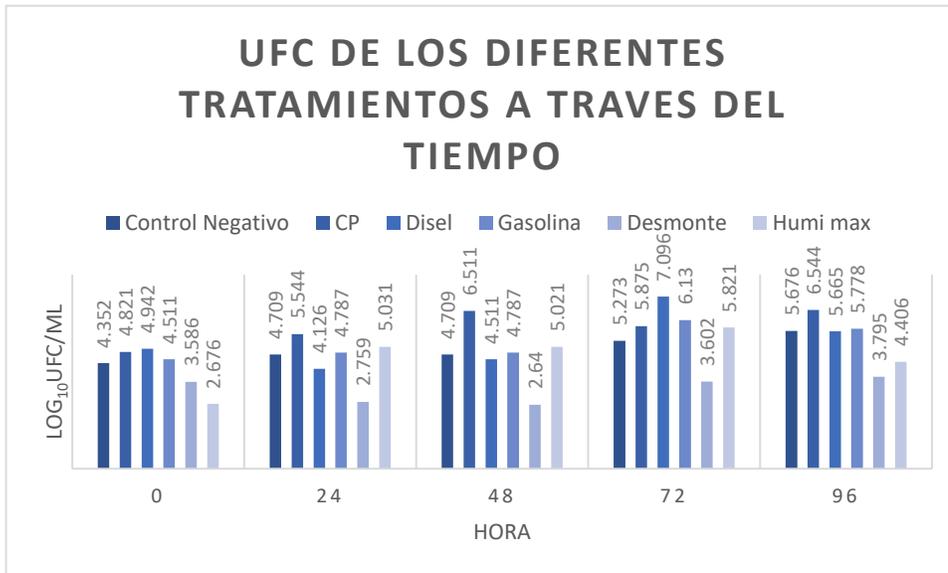


Fig.1 Grafica de crecimiento bacteriano. Crecimiento bacteriano de cada tratamiento a diferentes horas, se utilizó el método de Drop plate. La fuente de carbono citrato de sodio es el control Positivo (A), control negativo: la ausencia de fuente de carbono (B), Diésel es el tratamiento (C), el hidrocarburo Gasolina (D), el herbicida Humi max (E) y Desmorte-4EB el tratamiento (F).

Asimismo, se evaluó la capacidad de *P. putida* KT2440 para degradar las diferentes fuentes de carbono. En la cual se tomó como referencia el control positivo que registró un aumento en la población debido a que la fuente de carbono fue citrato de sodio, en el control negativo se registró un descenso de las colonias debido a la falta de fuente de carbono, en el tratamiento con gasolina, utilizada como fuente de carbono por la bacteria, se registró una degradación de 19.31%, y el Diésel registró 19.51% de degradación. Junto a estos resultados se obtuvo la gráfica de los datos registrados de la absorbancia de este colorante (Fig. 2).

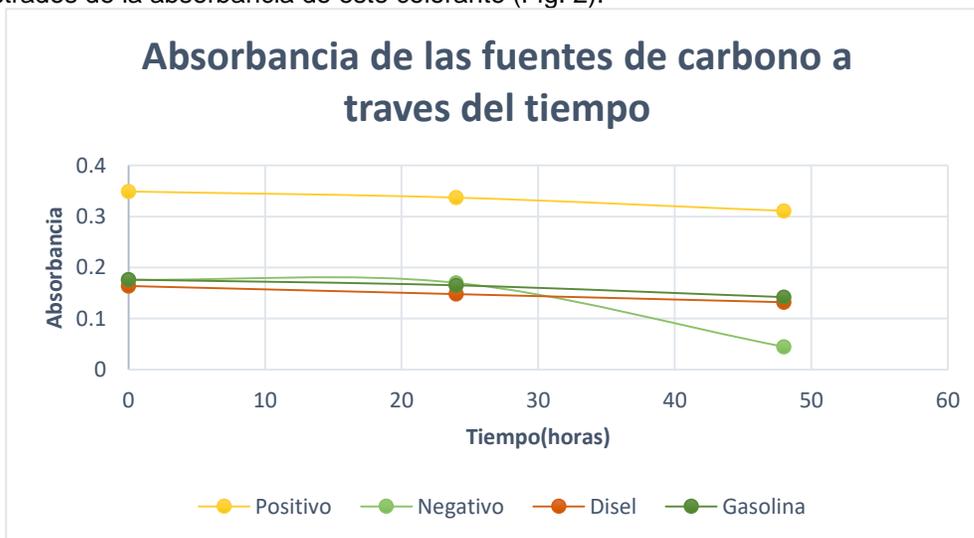


Fig.2 Curva de absorbancia de degradación registrada en los diferentes tratamientos en relación con el tiempo, en donde se puede observar una disminución de absorbancia en medida que transcurre el tiempo.

CONCLUSIONES

La bacteria *Pseudomonas putida* KT2440 es capaz de oxidar dos hidrocarburos, y los utiliza como fuente de carbono, el Diésel es la mejor fuente de carbono porque registró el mayor incremento en la población bacteriana, seguido por la gasolina. Así mismo, fue evaluada la capacidad de la bacteria para oxidar dos herbicidas, Humi Max que fue utilizado como fuente de carbono; sin embargo, *P. putida* KT2440 carece de actividad metabólica para oxidar a Desmote 4EB. Por lo que se recomienda, continuar con el estudio de la capacidad de degradación de esta bacteria.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Colangelo, C. H. (1900). Procedimientos analíticos toxicológicos para laboratorios forenses de baja complejidad (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- [2] Méndez, A. S., Méndez, F., Aguirre, G., & Serrano, H. (2008). Disrupción endocrina de la diferenciación sexual. *ContactoS*, 70, 43-49.
- [3] González Pérez, DM (2017). Eliminación de xenobióticos de aguas urbanas residuales mediante biorreactores de membrana sumergida.
- [4] Montenegro, S. P., Pulido, S. Y., & Vallejo, L. F. C. (2018). Prácticas de biorremediación en suelos y aguas. *Notas de Campus*, (1).

- [5] Palomo-Rodríguez, M., Viramontes, U. F., Arellano, J. D. J. E., & González, A. R. Comportamiento de la carga nutrimental en drenes agrícolas del Valle de Juárez. Jorge Alberto Pérez León (Coordinadores), 7.
- [6] Salame-Méndez, A., Gómez-Olivares, J. L., Valencia-Quintana, R., Castro-Campillo, A., Ramírez-Pulido, J., García-Suárez, M. D., & Serrano, H. (2010). Xenobióticos: una paradoja biomédica. Jorge Alberto Pérez León (Coordinadores), 45.
- [7] Congiu, E. (2013). Biosurfactantes y biorremediación: Efecto sobre la biodisponibilidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos adsorbidos a suelos (Doctoral dissertation, Universidad de Sevilla).
- [8] Raclavská, H., Růžičková, J., Škrobánková, H., Koval, S., Kucbel, M., Raclavský, K., ... & Juchelková, D. (2018). Possibilities of the utilization of char from the pyrolysis of tetrapak. *Journal of Environmental Management*, 219, 231-238.
- [9] Kim, K. H., Jahan, S. A., Kabir, E., & Brown, R. J. (2013). A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environment international*, 60, 71-80.
- [10] Rose, M. T., Cavagnaro, T. R., Scanlan, C. A., Rose, T. J., Vancov, T., Kimber, S., ... & Van Zwieten, L. (2016). Impact of herbicides on soil biology and function. *Advances in agronomy*, 136, 133-220.
- [11] Duke, S. O., & Dayan, F. E. (2018). Herbicides. *eLS*, 1-9.
- [12] Qu, R. Y., He, B., Yang, J. F., Lin, H. Y., Yang, W. C., Wu, Q. Y., ... & Yang, G. F. (2021). Where are the new herbicides?. *Pest Management Science*, 77(6), 2620-2625.
- [13] El-Aziz, Z. K. A., El-Sayed, M. H., & El-Ghany, A. A. A. (2016). Microbial Bioremediation of Lead by Lead-Resistant *Pseudomonas chlororaphis* Strain Hel-KE'-14 Isolated from Industrial Wastewater. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 5(4).
- [14] Wasi, S., Tabrez, S., & Ahmad, M. (2013). Use of *Pseudomonas* spp. for the bioremediation of environmental pollutants: a review. *Environmental monitoring and assessment*, 185(10), 8147-8155.
- [15] Bera, S. P., & Tank, S. K. (2021). Screening and identification of newly isolated *Pseudomonas* sp. for biodegrading the textile azo dye CI Procion Red H-3B. *Journal of Applied Microbiology*, 130(6), 1949-1959.
- [16] Roca Hernández, ADLA (2009). Estudio del metabolismo del formaldehído en *Pseudomonas putida* KT2440.
- [17] Salazar, D., José, A., Huamán Inca, P. J., Montenegro Pisfil, J., Spiner Gutierrez, J., & Zarsoza Robles, N. A. (2014) Seminario III—Biodegradación de contaminantes xenobióticos: biorremediación de suelos, acuíferos, derrames de petróleo, relaves mineros.
- [18] Bermúdez, D. S. (2013). Estudio molecular de poblaciones *Pseudomonas* ambientales (Doctoral dissertation, Universitat de les Illes Balears).
- [19] Pérez Álvarez, S., Coto Arbelo, O., Echemendía Pérez, M., & Ávila Quezada, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿ control biológico o patógeno?: *Pseudomonas fluorescens*, biological control or pathogen?. *Revista de Protección Vegetal*, 30(3), 225-234.

- [20] Singh, B. y Singh, K. (2016). Degradación microbiana de herbicidas. Revisiones críticas en microbiología , 42 (2), 245-261.
- [21] Mulet, M., Gomila, M., Scotta, C., Sánchez, D., Lalucat, J., & García-Valdés, E. (2012). Concordance between whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and multilocus sequence analysis approaches in species discrimination within the genus *Pseudomonas*. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(7), 455-464.
- [22] Bharwad, K., & Rajkumar, S. (2019). Rewiring the functional complexity between Crc, Hfq and sRNAs to regulate carbon catabolite repression in *Pseudomonas*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(9), 1-12.
- [23] Bracho, M., Díaz, L., & Soto, L. M. (2011). Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y heterocíclicos por *Pseudomonas* spp. *Ciencia*, 12(4).
- [24] Pantoja, L. E. F., Silva, E. B., Lara, P. D. L., & Mejía, R. J. (2022). Actividad antifúngica y características de promoción de crecimiento vegetal de *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* sp. degradadoras de hidrocarburos aisladas de suelo contaminado. *Acta Biológica Colombiana*, 27(3).
- [25] Lozano-Mahecha, R. A., & López-López, K. (2022). Aislamiento y caracterización de bacterias endémicas colombianas con capacidad de degradar tolueno. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 24(1), 6-18.
- [26] Fan, J., Yang, G., Zhao, H., Shi, G., Geng, Y., Hou, T. y Tao, K. (2012). Isolation, identification and characterization of a glyphosate-degrading bacterium, *Bacillus cereus* CB4, from soil. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58(4), 263-271.
- [27] Sani, R. K., Azmi, W., & Banerjee, U. C. (1998). Comparison of static and shake culture in the decolorization of textile dyes and dye effluents by *Phanerochaete chrysosporium*. *Folia microbiologica*, 43(1), 85-88.

INDICADORES DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE NUEVAS VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum* spp. Híbridos) EN FASE SEMILLERO

Jazmin Lavin-Castañeda¹; Arturo Pérez-Vázquez²; Libia I. Trejo-Téllez³; Juan Valente Hidalgo-Contreras⁴; José López-Collado⁵; Gustavo López-Romero⁶; Fernando C. Gómez-Merino^{7*}

^{1,4,7}Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953. ^{1,2,5,6}Colegio de Postgraduados Campus Veracruz. Carretera Xalapa-Veracruz km 88.5, Tepetates, Manlio F. Altamirano, Veracruz, México. C. P. 91700. ^{3,7}Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: fernadg@colpos.mx

RESUMEN

En este estudio se evaluó la germinación de 11 variedades en proceso de selección a los 28 y 56 días después de la siembra en ciclo plantilla, así como parámetros de crecimiento 90 días después de la siembra, en Fase de selección Semillero. Como testigos de referencia, se incluyeron variedades comerciales de maduración temprana (CP 72-2086 y COLPOS 05-204), media (Mex 69-290) y tardía (Mex 79-431). Cada variedad tuvo cinco repeticiones de 20 m lineales. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey ($\alpha = 0.05$). Las variedades en selección COLPOS 09-208, COLPOS 09-132, COLPOS 09-341 y COLPOS 66 destacaron en germinación después de 28 días de la siembra. A los 56 días emergieron entre 292 a 240 plantas en las variedades COLPOS 09-66, COLPOS 09-341, COLPOS 09-132 y COLPOS 09-208, superando a las variedades comerciales que germinaron de 151 a 134 plantas. Las variedades COLPOS 09-132, COLPOS 09-66, COLPOS 09-93, COLPOS 09-212 y COLPOS 09-341, destacan en mayor número de hojas por tallo moledero, en tanto que las variedades comerciales Mex 79-431 y CP 72-2086 presentan de cinco a cuatro hojas por tallo. Las variedades COLPOS 09-341, COLPOS 09-312, COLPOS 09-321, COLPOS 09-93, COLPOS 09-132 y COLPOS 09-333 destacaron con alturas superiores que oscilan de 77.17 a 130.28 cm, en comparación de dos variedades comerciales, Mex 79-431 y CP 72-2086 con alturas que van de 48.22 y 58.50 cm. Las variedades COLPOS 09-321, COLPOS 09-312, COLPOS 09-341, COLPOS 09-212, COLPOS 09-333, COLPOS 09-93, COLPOS 09-289, COLPOS 09-132 y COLPOS 09-208 mostraron diámetros de tallos de 10.32 a 12.18 mm; mientras que las variedades testigo tuvieron diámetros de 8.93 a 9.20 mm. Se concluye que el proceso de selección varietal de caña de azúcar está generando genotipos con mejores atributos de germinación que los testigos comerciales que llevan más de 50 años en el campo mexicano.

INTRODUCCIÓN

En México, la cadena de valor de la caña de azúcar tiene un gran impacto económico y social en las comunidades donde se desarrolla, principalmente por ser fuente de alimentos y energía (Gómez-Merino *et al.*, 2021). Para su establecimiento exitoso, es necesario contar con plantas de buena calidad y vigor, que muestren excelente capacidad de germinación y crecimiento inicial (Aguilar-Rivera *et al.*, 2015).

En México, el proceso de selección de variedades de caña de azúcar se detuvo en la década de 1990, reiniciando hasta la década de 2005. Ello ocasionó que actualmente se sigan utilizando variedades que fueron seleccionados hace más de 50 años por lo que es necesario la renovación y

ampliación de materiales genéticos en el sector para ser más competitivos (Lavín-Castañeda *et al.*, 2022).

La selección varietal acoplada a un programa de mejoramiento genético convencional de caña de azúcar es un proceso que puede tomar de 14 a 16 años, con un promedio de 15 años (IMPA, 1983; Orozco *et al.*, 2012). De manera convencional, cualquier programa de mejoramiento y selección varietal de caña de azúcar que se desarrolle en el mundo, comprende las siguientes fases: Plántula, Surco, Cepa, Parcela, Multiplicación I, Prueba de Adaptabilidad, Multiplicación II, Evaluación Agroindustrial, Multiplicación III, Prueba Semicomercial y Semillero Comercial (Flores-Cáceres, 2001).

En este estudio se evaluaron germinación y características agronómicas de 11 nuevas variedades en Fase Semillero del proceso de selección (COLPOS 09-66, COLPOS 09-93, COLPOS 09-132, COLPOS 09-208, COLPOS 09-212, COLPOS 09-289, COLPOS 09-290, COLPOS 09-312, COLPOS 09-321, COLPOS 09-333 y COLPOS 09-341), durante el ciclo plantilla (Lavín-Castañeda *et al.*, 2022).

PARTE EXPERIMENTAL

Este estudio se llevó a cabo en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, ubicado en la Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348.5, Congregación Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México a una altitud de 650 m.

Material vegetal

Se evaluaron 11 variedades en proceso de selección en ciclo plantilla (Lavín-Castañeda *et al.*, 2022); mismas que son presentadas en la Figura 1.



Figura 1. Variedades de caña de azúcar en proceso de selección en ciclo Plantilla en el campus Córdoba del Colegio de Postgraduados.

Como testigos se incluyeron variedades comerciales de maduración temprana (CP 72-2086 y COLPOSCT 05-204), media (Mex 69-290) y tardía (Mex 79-431) en la evaluación de germinación.

En crecimiento, se incluyeron las variedades comerciales CP 72 2086, Mex 69-290 y Mex 79-431 como testigos.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

En esta investigación las variedades de caña de azúcar fueron consideradas tratamientos. Cada variedad tuvo cinco repeticiones en germinación y 18 repeticiones crecimiento en 20 y 2 m lineales, respectivamente.

Cada repetición fue distribuida en campo en un diseño completamente al azar.

Evaluación de variedades

En Fase Semillero se evaluaron dos etapas fenológicas de caña de azúcar:

1. Germinación a los 28 y 56 días después de la siembra.
2. En Macollaje se evaluaron variables agronómicas de crecimiento (número de hojas, altura y diámetro de los tallos molederos), a los 90 días después de la siembra (DDS)

Análisis de datos

Con los datos obtenidos en germinación y macollaje se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$) usando el software R (R Core Team, 2020).

RESULTADOS

La mayor germinación a los 28 DDS se registró en COLPOS 09-208, COLPOS 09-132 COLPOS 341 y COLPOS 09-66; mientras que a los 56 DDS se tuvo en COLPOS 09-66, COLPOS 09-341, COLPOS 09-132 y COLPOS 09-208. Estas variedades superan a las variedades comerciales (Figura 2).

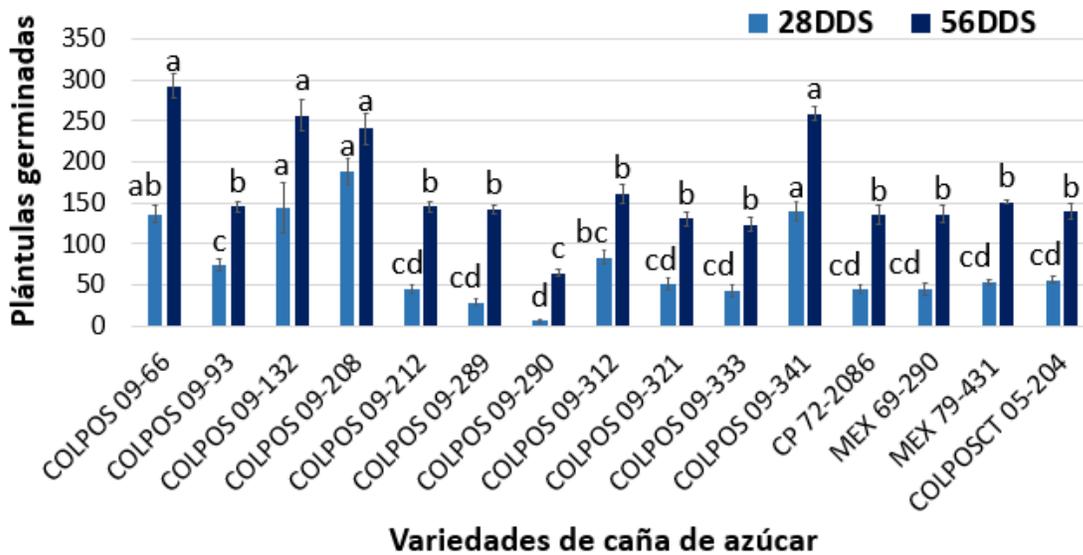


Figura 2. Plantas germinadas en cinco surcos de 20 m, de 11 variedades en selección y cuatro testigos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en Fase Semillero. Medias ± SD con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) en cada muestreo. DDS: días después de la siembra.

Las variedades COLPOS 09-341, COLPOS 09-312, COLPOS 09-321 y COLPOS 09-93 superan a los testigos en altura de tallos molederos a los 90 DDS. Las 11 nuevas variedades superan en diámetro de tallos molederos, a los testigos, destacando COLPOS 09-321 con mejor diámetro. La variedad comercial CP 72-2086 presenta menor número de hojas a comparación de las demás variedades (Cuadro 1).

Cuadro 1. Variables de crecimiento de caña de azúcar (*Saccharum* spp.)

en macollaje a los 90 DDS.

Variedades de caña de azúcar	Altura de tallos molederos (cm)	Diámetro de tallos (mm)	Número de hojas
COLPOS 09-66	67.67 ± <u>cdefg</u>	9.52 ± <u>cde</u>	6.22 ± <u>a</u>
COLPOS 09-93	83.67 ± <u>bc</u>	10.9 ± <u>abcde</u>	6.16 ± <u>ab</u>
COLPOS 09-132	78.39 ± <u>bcde</u>	10.38 ± <u>abcde</u>	6.27 ± <u>a</u>
COLPOS 09-208	59.22 ± <u>fgh</u>	10.32 ± <u>abcde</u>	5.38 ± <u>abc</u>
COLPOS 09-212	64.33 ± <u>defgh</u>	11.18 ± <u>abcd</u>	6.16 ± <u>ab</u>
COLPOS 09-289	63.06 ± <u>efgh</u>	10.69 ± <u>abcde</u>	5.72 ± <u>abc</u>
COLPOS 09-290	64.17 ± <u>defgh</u>	9.82 ± <u>bcde</u>	5.00 ± <u>bc</u>
COLPOS 09-312	93.44 ± <u>b</u>	11.81 ± <u>ab</u>	5.66 ± <u>abc</u>
COLPOS 09-321	90.50 ± <u>b</u>	12.18 ± <u>a</u>	5.77 ± <u>abc</u>
COLPOS 09-333	77.17 ± <u>bcdef</u>	11.07 ± <u>abcde</u>	5.94 ± <u>abc</u>
COLPOS 09-341	130.28 ± <u>a</u>	11.49 ± <u>abc</u>	6.11 ± <u>ab</u>
CP 72-2086	48.22 ± <u>h</u>	9.20 ± <u>de</u>	4.77 ± <u>c</u>
MEX 69-290	82.06 ± <u>bcd</u>	9.20 ± <u>de</u>	6.00 ± <u>ab</u>
MEX 79-431	58.50 ± <u>gh</u>	8.93 ± <u>e</u>	5.11 ± <u>abc</u>

Medias ± SD con letras distintas en cada columna indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) en cada muestreo. DDS: días después de la siembra.

Las nuevas variedades de caña de azúcar en Fase Semillero muestran atributos superiores en indicadores de germinación y crecimiento inicial, en comparación con los testigos comerciales. Estos atributos, aunados a su mayor capacidad fotosintética, de rendimiento y de acumulación de sacarosa (Lavin-Castañeda *et al.*, 2020), hacen de estos nuevos genotipos excelentes candidatos para ir ocupando espacios importantes en las áreas cultivadas con caña de azúcar.

CONCLUSIONES

El proceso de selección varietal de caña de azúcar está generando genotipos con mejores atributos de germinación que los testigos comerciales que llevan más de 50 años en el campo mexicano.

Algunos de los genotipos que están en proceso de selección muestran mayor vigor en las primeras etapas del crecimiento de este cultivo, lo que eventualmente se podría traducir en mejores rendimientos en campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. S. Flores-Cáceres, "Las variedades de caña de azúcar en México", Editorial ATAM: México, D. F., 2011. 308 p.
2. F. C. Gómez-Merino, L. I. Trejo-Téllez & N. Aguilar-Rivera, "Agregación de valor y diversificación de la agroindustria de la caña de azúcar en México: Opciones y desafíos", *Revista ATAM*, Vol. 34, 2, 2021, pp. 6-10.
3. H. Orozco, J. L. Quemé, W. Ovalle & F. Rosales, "Sugarcane breeding and selection". *In*: M. Melgar, A. Meneses, H. Orozco, O. Pérez & R. Espinosa (eds.), *Sugarcane Crop in Guatemala (CENGICAÑA: Guatemala, CA, 2012)*, pp. 46–76.
4. IMPA (Instituto para el Mejoramiento de la Producción Azucarera), "Programa de variedades. Objetivos, Importancia y Metodología Experimental. Centro Nacional de Investigaciones Azucareras", México, D. F. 1983, 63 p.
5. J. Lavín-Castañeda, H. E. Sentíes-Herrera, L. I. Trejo-Téllez, J. V. Hidalgo-Contreras & F. C. Gómez-Merino. "Advances in the selection program of sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties in the Colegio de Postgraduados". *Agroproductividad*, Vol. 13, 11, 2020, pp. 123-129, <https://doi.org/10.32854/agrop.v13i11.1776>
6. J. Lavín-Castañeda, L. I. Trejo-Téllez, J. V. Hidalgo-Contreras & F. C. Gómez-Merino, "Nuevas variedades de caña de azúcar en Prueba Semicomercial en el Colegio de Postgraduados Campus Córdoba", *Revista ATAM*, Vol. 35, 4, 2022, pp. 9-12.
7. N. Aguilar-Rivera, M. Algara Siller & L. A. Olvera Vargas, "Gestión del agua como factor limitante de productividad cañera en México", *Revista de Geografía Norte Grande*, Vol. 60, 2015, pp. 135-152, <https://doi.org/10.4067/S0718-34022015000100008>
8. R Core Team, "R: A language and environment for statistical computing", R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020, <https://www.R-project.org/>

FOSFITO EN EL CONTROL DE *Phytophthora capsici* (Leonian) EN COMPATIBILIDAD CON *Bacillus amyloliquefaciens* *in vitro*

Alejandra Pacheco-Narcizo¹; Fernando Carlos Gómez-Merino²; Libia I. Trejo-Téllez³; Juan Valente Hidalgo-Contreras⁴

^{1,2,4}Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953.

^{2,3}Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: fernandg@colpos.mx

RESUMEN

El patógeno *Phytophthora capsici* es un oomiceto altamente destructivo, agente causal de la pudrición de la zona de transición entre la raíz y el tallo en plantas y su control se ha logrado mediante la aplicación de productos químicos que causan residualidad en el ambiente. Para transitar a una agricultura sustentable, se necesitan productos alternativos dentro de la rama de los químicos verdes. El fosfito (Phi) es considerado un producto alternativo que tiene acción directa sobre organismos fitopatógenos, afecta el crecimiento, desarrollo y reproducción de oomicetos, bacterias, hongos y nematodos. Por su parte *Bacillus amyloliquefaciens* sintetiza metabolitos secundarios antimicrobianos e inducen respuestas de defensa en la planta huésped. En este estudio se evaluó el efecto de cinco dosis de Phi (0, 5, 10, 15, 20 y 25 μM) en combinación con *B. amyloliquefaciens*, en el control *in vitro* de *Phytophthora capsici*. Se condujo un experimento en un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una caja Petri con medio de cultivo PDA adicionado con Phi, en donde se inoculó un disco de micelio de *P. capsici* en el centro y el antagonista en cuatro puntos equidistantes a 2 cm del borde de la placa. La comprobación de los mecanismos antagonistas se verificó por observación directa de la placa y cuantificación del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial durante siete días. Con los datos obtenidos del porcentaje inhibición del crecimiento micelial (IMG) se realizaron pruebas de homogeneidad y normalidad; posteriormente análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$). El tratamiento 25 μM Phi + *B. amyloliquefaciens* inhibió totalmente el crecimiento micelial de *P. capsici*. El tratamiento 20 μM Phi + *B. amyloliquefaciens* presentó el 75.8% de inhibición. Las concentraciones 5, 10 y 15 μM Phi + *B. amyloliquefaciens*, presentaron porcentajes de inhibición de 68.2, 70.6 y 68.8% respectivamente, y no presentaron diferencias significativas entre ellas. Finalmente, el tratamiento 0 μM Phi + *B. amyloliquefaciens* inhibió el crecimiento micelial presentando el 42.7%; mientras que, en el testigo absoluto, *P. capsici* cubrió completamente la caja Petri. Estos resultados muestran que la combinación de Phi y *B. amyloliquefaciens* ejercen un efecto antagonista y aumenta la eficacia en la inhibición del crecimiento micelial de *P. capsici*. Tanto el Phi como *B. amyloliquefaciens* actúan de manera sinérgica, el Phi como agente fungistático y *B. amyloliquefaciens* como antagonista mediante la competencia por espacio y nutrientes.

INTRODUCCIÓN

Debido al éxito comercial de diversos cultivos agrícolas, la superficie de la producción nacional como monocultivo ha aumentado considerablemente, lo que provocó la aparición de problemas fitosanitarios, principalmente la marchitez de plantas (Aguirre-Medina *et al.*, 2021) causada por *Phytophthora capsici*, oomiceto altamente destructivo (Olguín Hernández *et al.*, 2013) y su control se ha logrado mediante la aplicación de los fungicidas metalaxyl y mefenoxan, los cuales reducen la incidencia de la enfermedad, pero pueden tener efectos negativos en el ambiente cuando son manejados de forma inapropiada. Por ello, es necesario probar nuevos productos químicos

alternativos más amigables con el ambiente (Cerioni *et al.*, 2017; Singh y Vaishnav, 2022). Junto con estos productos químicos alternativos, es posible el empleo de organismos benéficos como enemigos naturales de patógenos (Manayay-Guevara *et al.*, 2016; Solis-Palacios *et al.*, 2021). La combinación eficiente de sales de fosfito con especies del género *Bacillus* han probado eficiencia en enfoques de biocontrol y bioestimulación en diferentes cultivos (Simonetti *et al.*, 2015; Su *et al.*, 2022).

El fosfito (Phi ; H_2PO_3^- o HPO_3^{2-}) es un isómero del ion fosfato (Pi ; H_2PO_4^- o HPO_4^{2-}) que resulta de la pérdida de protones del ácido fosforoso (H_3PO_3), el cual presenta un átomo central de P con valencia 3, unido a través de un doble enlace a un átomo de O, dos grupos hidroxilo (OH) y un átomo de H a través de un enlace simple (Gómez-Merino *et al.*, 2022). El término de biocontrol, el fosfito puede actuar de forma directa sobre los organismos plagas o agentes causales de enfermedades (Massoud *et al.*, 2012; Liljeroth *et al.*, 2016) como *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., entre otros (Oyaburo *et al.*, 2015; Cerqueira *et al.*, 2017). La acción del Phi también puede darse de modo indirecto, a través de la estimulación de los mecanismos naturales de defensa de las plantas (Silva *et al.*, 2011), que restringen la penetración y supervivencia de los patógenos en la planta (Wu *et al.*, 2019).

Microorganismos benéficos como *Bacillus amyloliquefaciens* tienen la capacidad de suprimir patógenos del suelo, y actuar de manera indirecta, por competencia de espacio y nutrientes (producción de sideróforos, inducción a la respuesta sistémica en plantas mediante la producción de fitohormonas y patrones moleculares) (Xu *et al.*, 2013; Chowdhury *et al.*, 2015).

El manejo integrado de plagas y enfermedades (MIPE) apunta a combinar las ventajas de los diferentes métodos de control, de acuerdo con las condiciones específicas de cada cultivo. La compatibilidad de la bacteria benéfica *Bacillus amyloliquefaciens* con distintos productos considerados dentro de la categoría de químicos verdes como el Phi, representa una alternativa en enfoques de biocontrol y bioestimulación para la agricultura sustentable.

En este estudio se evaluó el efecto de cinco dosis de Phi (0, 5, 10, 15, 20 y 25 μM) en combinación con *B. amyloliquefaciens*, en el control *in vitro* de *Phytophthora capsici*.

El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos individuales y combinados de Phi y *B. amyloliquefaciens* en el control *in vitro* de *P. capsici* en condiciones de laboratorio.

PARTE EXPERIMENTAL

Tratamientos

Se evaluó el efecto de cinco dosis de Phi (0, 5, 10, 15, 20 y 25 μM) suministrado a partir de ácido fosforoso, en combinación con *Bacillus amyloliquefaciens*, en el control *in vitro* de *Phytophthora capsici* en condiciones de laboratorio.

Diseño experimental

Se condujo un experimento en un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una caja Petri con medio de cultivo PDA adicionado con Phi, en donde se inoculó un disco de micelio de *P. capsici* en el centro y el antagonista en cuatro puntos equidistantes a 2 cm del borde de la placa.

VARIABLES EVALUADAS

La comprobación de los mecanismos antagonistas se verificó por observación directa de la placa y cuantificación del porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (IMG) durante siete días.

Análisis estadísticos

Con los datos obtenidos del porcentaje IMG se realizaron pruebas de homogeneidad y normalidad; posteriormente análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$).

RESULTADOS

El tratamiento 25 μM Phi + *B. amyloliquefaciens* inhibió totalmente el crecimiento micelial de *P. capsici*. El tratamiento 20 μM Phi + *B. amyloliquefaciens* presentó el 75.8% de inhibición. Las concentraciones 5, 10 y 15 μM Phi + *B. amyloliquefaciens*, presentaron porcentajes de inhibición de 68.2, 70.6 y 68.8% respectivamente, y no mostraron diferencias significativas entre ellas (Figura 1).

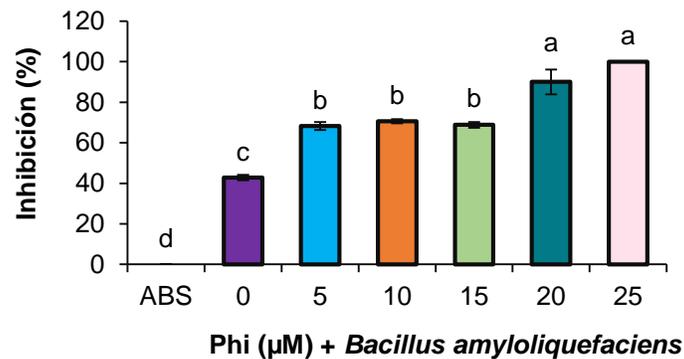


Figura 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Phytophthora capsici* en medio de cultivo PDA en confrontación con *Bacillus amyloliquefaciens* con adición de distintas concentraciones de Phi. ABS: Testigo absoluto. Medias \pm Error Estándar con letras distintas son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Finalmente, el tratamiento 0 μM Phi + *B. amyloliquefaciens* inhibió el crecimiento micelial presentando el 42.7%; mientras que, en el testigo absoluto, *P. capsici* cubrió completamente la caja Petri (Figura 2).

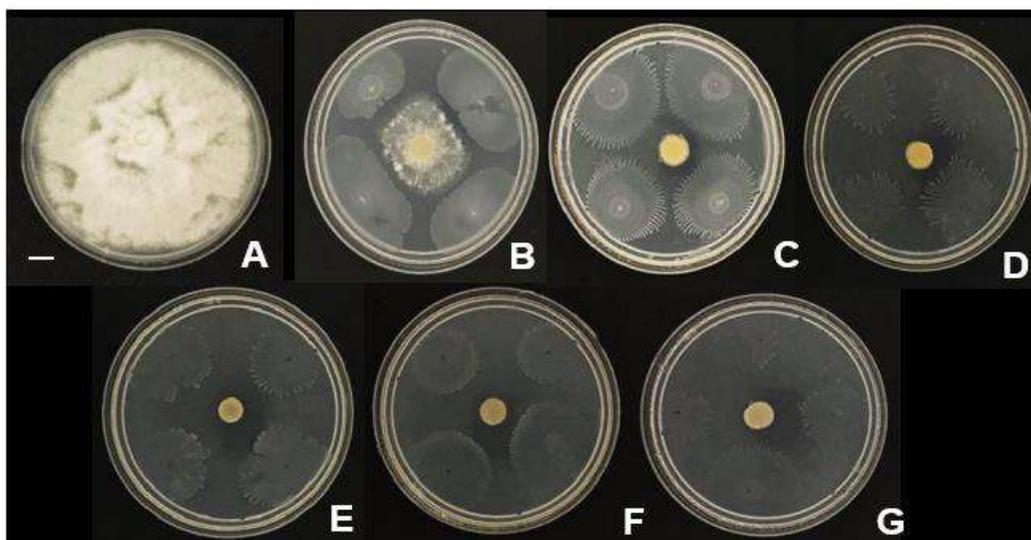


Figura 2. Crecimiento micelial de *P. capsici* en confrontación con *B. amyloliquefaciens* en diferentes concentraciones de Phi en medio PDA después de 8 d. A) Testigo sin Phi y sin *B. amyloliquefaciens*, B) Testigo sin Phi (0 μM) con *B. amyloliquefaciens*, C) 5 μM Phi con *B. amyloliquefaciens*, D) 10 μM Phi con *B. amyloliquefaciens*, E) 15 μM Phi con *B. amyloliquefaciens*, F) 20 μM Phi con *B. amyloliquefaciens*, G) 25 μM Phi con *B. amyloliquefaciens*. Bar = 1 cm.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que la combinación de Phi y *B. amyloliquefaciens* ejercen un efecto antagonista y aumenta la eficacia en la inhibición del crecimiento micelial de *P. capsici*. Tanto Phi como *B. amyloliquefaciens* actúan de manera sinérgica, el Phi como agente fungistático y *B. amyloliquefaciens* como antagonista mediante la competencia por espacio y nutrientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Cerqueira, A. Alves, H. Berenguer, B. Correia, A. Gómez-Cadenas, J. J. Diez, P. Monteiro & G. Pinto, "Phosphite shifts physiological and hormonal profile of Monterey pine and delays *Fusarium circinatum* progression", *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 114, 2017, pp. 88–99. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.02.020>
2. C. A. L. Manayay-Guevara, L. M. Cordova-Rojas, J. W. García-López & M. J. Vásquez-Vásquez, "Efecto antagónico de una cepa de *Trichoderma* sp sobre *Fusarium* sp. en planta de tomate Río Grande (*Solanum lycopersicum*)", UCV-HACER. Revista de Investigación y Cultura, Vol. 5, 2016, pp. 64–68.
3. E. Liljeroth, Å. Lankinen, L. Wiik, D. D. Burra, E. Alexandersson & E. Andreasson, "Potassium phosphite combined with reduced doses of fungicides provides efficient protection against potato late blight in large-scale field trials", *Crop Protection*, Vol. 86, 2016, pp. 42–55, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.04.003>
4. E. Simonetti, N. P. Viso, M. Montecchia, C. Zilli, K. Balestrasse & M. Carmona, "Evaluation of native bacteria and manganese phosphite for alternative control of charcoal root rot of soybean", *Microbiological Research*, Vol. 180, 2015, pp. 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.07.004>
5. F. C. Gómez-Merino, L. F. Gómez-Trejo, R. Ruvalcaba-Ramírez, & L. I. Trejo-Téllez, "Application of phosphite as a biostimulant in agriculture", *In: New and Future Developments in*

- Microbial Biotechnology and Bioengineering, (Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2022), Chapter 7, pp. 135-153, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85581-5.00002-1>
6. G. Olguín-Hernández, G. Valdovinos-Ponce, J. Cadena-Íñiguez, M. L. Arévalo-Galarza, “Etiología de la marchitez de plantas de chayote (*Sechium edule*) en el estado de Veracruz”, *Revista Mexicana de Fitopatología*, Vol. 31, 2, 2013, pp. 161–169.
 7. H. B. Singh & V. Vaishnav, “New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Sustainable Agriculture: Revisiting Green Chemicals”, Elsevier, 2022.
 8. J. F. Aguirre-Medina, J. Cadena-Íñiguez, G. Olguín-Hernández, J. F. Aguirre-Cadena & M. I. Andrade-Luna, “Co-Inoculation of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. plants with *Rhizopagus intraradices* and *Azospirillum brasilense* to reduce *Phytophthora capsici* damage”, *Agriculture*, Vol. 11, 2021, 391. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050391>
 9. K. Massoud, T. Barchietto, T. Le Rudulier, L. Pallandre, L. Didierlaurent, M. Garmier, F. Ambard-Bretteville, M. J. Seng & P. Saindrenan, “Dissecting phosphite-induced priming in *Arabidopsis* infected with *Hyaloperonospora arabidopsidis*”, *Plant Physiology*, Vol. 159, 2012, pp. 286–298, <https://doi.org/10.1104/pp.112.194647>
 10. L. Cerioni, P. B. Bennasar, D. Lazarte, M. Sepulveda, J. L. Smilanick, J. Ramallo & V. A. Rapisarda, “Conventional and reduced-risk fungicides to control postharvest *Diplodia* and *Phomopsis* stem-end rot on lemons”, *Scientia Horticulturae*, Vol. 225, 2017, pp. 783–787, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.008>
 11. L. Su, P. Qiu, Z. Fang, J. Sun, X. Mo, Y. Liu, E. E. Kuramae, R. Zhang, B. Shen & Q. Shen, “Potassium phosphite enhances the antagonistic capability of *Bacillus amyloliquefaciens* to manage tomato bacterial Wilt”, *Plant Disease*, Vol. 106, 2, 2022, pp. 654–660. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-21-1601-RE>
 12. L. Wu, X. Gao, F. Xia, J. Joshi, T. Borza & G. Wang-Pruski, “Biostimulant and fungicidal effects of phosphite assessed by GC-TOF-MS analysis of potato leaf metabolome”, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Vol. 106, 2019, pp. 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.001>
 13. N. S. Oyarburo, M. F. Machinandiarena, M. L. Feldman, G. R. Daleo, A. B. Andreu & F. P. Olivieri, “Potassium phosphite increases tolerance to UV-B in potato”, *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 88, 2015, pp. 1–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.01.003>
 14. O. C. Silva, H. A. A. Santos, M. Dalla Pria & L. L. May-De Mio, “Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean”, *Crop Protection*, Vol. 30, 2011, pp. 598–604. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.015>
 15. R. Solis-Palacios, G. Hernández-Ramírez, J. Salinas-Ruiz, J. V. Hidalgo-Contreras & F. C. Gómez-Merino, “Effect and compatibility of phosphite with *Trichoderma* sp. isolates in the control of the *Fusarium* species complex causing Pokkah Boeng in sugarcane”, *Agronomy*, Vol. 11, 2021, 1099. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061099>.
 16. S. P. Chowdhury, J. Uhl, R. Grosch, S. Alquéres, S. Pittroff, K. Dietel, P. Schmitt-Kopplin, R. Borriss & A. Hartmann, “Cyclic lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses toward the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani*”, *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Vol. 28, 2015, pp. 984–995, <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-15-0066-R>
 17. Z. Xu, J. Shao, B. Li, X. Yan, Q. Shen & R. Zhang, “Contribution of bacillomycin D in *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to antifungal activity and biofilm formation”, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 79, 2013, pp. 808–815, <https://doi.org/10.1128/AEM.02645-12>

EL TALIO ALTERA LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILAS Y CAROTENOIDES EN HOJAS DE CHILE (*Capsicum annuum* L.)

María de la Luz Buendía-Valverde¹, Libia I. Trejo-Téllez^{2*}, Fernando C. Gómez Merino³, Tarsicio Corona-Torres⁴, Serafín Cruz-Izquierdo⁵, Rodrigo A. Mateos-Nava⁶, María Guadalupe Peralta-Sánchez⁷

¹⁻⁵Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. ⁶Facultad de Estudios Zaragoza, UNAM.

*E-mail: tlibia@colpos.mx

RESUMEN

Los metales no esenciales repercuten en la productividad de las plantas. El talio (Tl) es un metal no esencial considerado un contaminante ambiental. Existen pocos datos e información de los efectos que el Tl puede provocar en plantas; sin embargo, se considera un elemento altamente tóxico a bajas concentraciones, capaz de inhibir el crecimiento y procesos metabólicos. Por lo anterior, se estudió el efecto del Tl en la concentración de clorofilas y carotenoides de plantas de chile Jalapeño y Serrano. Se obtuvieron plántulas sanas de 60 días que fueron establecidas en un sistema en hidroponía en recipientes de plástico con solución nutritiva Steiner al 20%, después de una semana de aclimatación, se añadieron las soluciones de Tl (0, 0.5 y 1.5 μM), después de treinta días de exposición, las plantas fueron separadas, seccionadas y llevadas al laboratorio para realizar el análisis bioquímico. En una muestra de 0.5 g de hojas frescas y molidas se realizó una extracción con acetona al 80% homogenizando y centrifugando la muestra a 10 000 rpm a 4 °C por 15 min. Una alícuota de 100 μL de sobrenadante y 900 μL de acetona al 80% se transfirieron a una celda para llevar a cabo su lectura en el espectrofotómetro, leyendo a 663.2, 646.8 y 470 nm; finalmente, se determinó clorofila *a*, *b*, y carotenoides. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con tres repeticiones y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), con el software SAS. En la variedad Jalapeño, la aplicación de 0.5 y 1.5 μM Tl disminuyó significativamente la relación clorofila *a/b* 43 y 10% con respecto al testigo; así mismo, las clorofilas totales también se redujeron 21 y 37% al aplicar 0.5 y 1.5 μM Tl. Por otra parte, la concentración de carotenoides se incrementó significativamente al exponer las plantas a Tl. Los resultados sugieren que aún con bajas concentraciones el Tl puede causar toxicidad y alterar la concentración de clorofilas, no obstante, la aplicación de dosis bajas puede tener efectos horméticos al estimular la concentración de carotenoides, estas alteraciones se han presentado en mostaza blanca. Se concluye que las plantas de chile Jalapeño son más susceptibles que las del chile Serrano, el Tl disminuye la relación clorofila *a/b* y las clorofilas totales, pero incrementa la concentración de carotenoides en Jalapeño.

INTRODUCCIÓN

El talio (Tl) es un elemento no esencial para plantas superiores, considerado altamente tóxico, fue descubierto en 1861 por William Crookes. Entre sus propiedades fisicoquímicas destacan ser parte del grupo 13 de la tabla periódica, es suave, maleable, de color gris metálico, densidad relativa de 11.85 g cm^{-3} , número atómico 81, masa atómica relativa de 204.38, puntos de fusión de 303 °C y de ebullición de 457 °C. Unas de sus principales características son su radio iónico de 1.50 Å y su radio atómico de 1.71 Å, muy similar a otros cationes esenciales como el potasio (K^+) (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2013; Xu *et al.*, 2019).

El TI está presente en depósitos minerales, rocas, suelos, aguas superficiales y agua de mar. Por varias décadas fue utilizado como componente principal en raticidas, insecticidas y plaguicidas; sin embargo, debido a su alta toxicidad a los organismos, su uso está restringido a la industria farmacéutica (Galván-Arzate y Santamaría, 1998).

Es absorbido por las plantas principalmente desde suelos contaminados con TI, aunque su disponibilidad depende de la especie vegetal; por ejemplo, la familia *Brassicaceae* (con especies de importancia económica como brócoli, nabo y col), acumula altas concentraciones de TI, principalmente, en la parte aérea, a diferencia de plantas como la zanahoria, el frijol, la papa y el trigo, las cuales acumulan menores cantidades, mayormente en la raíz (Pavličková *et al.*, 2005). Las plantas que acumulan altas concentraciones de TI pueden representar un peligro potencial si forman parte de la cadena alimenticia de los seres humanos, una característica es que, al ser un elemento con larga vida media, puede acumularse en distintos órganos y causar enfermedades (Kazantis, 2000; Madejón *et al.*, 2007).

La absorción de TI en plantas está relacionada con su afinidad geoquímica con el K; debido a sus radios iónicos similares, el TI puede sustituir a K en diversos procesos bioquímicos (Xiao *et al.*, 2004). Además, el TI puede alterar la homeostasis del Ca e inhibir la actividad de diversas enzimas (Ferronato *et al.*, 2016).

En el contexto anterior, esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de las concentraciones de 0, 0.5 y 1.5 μM TI en la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, relación clorofila *a/b*, clorofila total y carotenoides) en plantas de chile Jalapeño y Serrano cultivadas en un sistema en hidroponía.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Se desinfectaron semillas de chile Jalapeño y Serrano para evitar la presencia de patógenos en solución de hipoclorito de sodio al 2% (0.33 mL L^{-1}) durante 15 min, posteriormente se germinaron en una charola de unicel de 200 cavidades con turba como sustrato, aplicando riegos ligeros de agua cada tercer día.

Establecimiento de experimento

Cuando las plántulas alcanzaron de 15 a 20 cm de longitud fueron establecidas en un sistema en hidroponía en recipientes de plástico de 4 L de capacidad con solución nutritiva Steiner al 20% (Steiner, 1984) aplicando oxigenación cada 3 h por 15 min con una bomba de aire, después de una semana de aclimatación.

Tratamientos y diseño experimental.

A las soluciones nutritivas se añadieron las soluciones de TI (0, 0.5 y 1.5 μM). El pH de las soluciones se ajustó a 5.5 cada 24 h. Las soluciones se renovaron en su totalidad cada siete días. La unidad experimental fue un recipiente con cuatro plantas; mismas que se distribuyeron en invernadero en un diseño completamente al azar.

VARIABLES EVALUADAS

después de treinta días de exposición, las plantas fueron separadas, seccionadas y llevadas al laboratorio para realizar el análisis bioquímico. En una muestra de 0.5 g de hojas frescas y molidas se realizó una extracción con acetona al 80% homogenizando y centrifugando la muestra a 10 000 rpm a 4°C por 15 min, una alícuota de 100 µL de sobrenadante y 900 µL de acetona al 80% se transfirió a una celda para llevar a cabo la lectura en el espectrofotómetro (Jenway 6715 UV/Vis), leyendo a 663.2, 646.8 y 470 nm, finalmente, se determinaron las concentraciones de clorofila a, b, y carotenoides de acuerdo a Sumanta *et al.* (2014), con las siguientes ecuaciones:

- $Cha = 12.25A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$
- $Chb = 21.5A_{646.8} - 5.1A_{663.2}$
- $Cx+c = (1000A_{470} - 1.82Ca - 85.02Cb) / 198$

A=absorbancia, Cha=Clorofila a, Chb=clorofila b, Cx+c= Carotenoides

El contenido total de clorofila se obtuvo con la suma de clorofila a y b

ANÁLISIS DE DATOS

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias con la prueba LSD ($P \leq 0.05$), para cada metal y variedad evaluados, usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El TI tuvo efectos diferenciales entre variedades de Chile. En la variedad Jalapeño, la aplicación de 1.5 µM TI disminuyó significativamente la concentración de clorofilas a y b en 34 y 31% respectivamente. Los tratamientos 0.5 y 1.5 µM TI reducen la relación clorofila a/b en 43 y 10% con respecto al testigo; las clorofilas totales se redujeron 21 y 37% al aplicar 0.5 y 1.5 µM TI. La concentración de carotenoides se incrementó significativamente al exponer las plantas a TI. Los tratamientos con TI no provocan diferencias significativas en la variedad Serrano (Cuadro 1).

Cuadro 1. Concentración de clorofilas, relación clorofila a/b y carotenoides (µg g⁻¹ de biomasa fresca) de hojas de Chile Jalapeño y Serrano expuestas a TI por 30 d.

Variable	Variedad	TI (µM)		
		0 (testigo)	0.5	1.5
Clorofila a	Jalapeño	5.60 ± 1.65 a	4.02 ± 0.45 a	1.90 ± 0.48 b
	Serrano	4.76 ± 0.97 a	5.02 ± 0.49 a	3.83 ± 0.66 a
Clorofila b	Jalapeño	2.56 ± 0.75 a	1.96 ± 0.41 a	0.80 ± 0.49 b
	Serrano	2.54 ± 0.55 a	2.66 ± 0.75 a	2.60 ± 0.58 a
Relación	Jalapeño	2.20 ± 0.40 a	0.96 ± 0.10 b	0.24 ± 0.18 c

Clorofila a/b	Serrano	1.07 ± 0.28 a	0.98 ± 0.29 a	0.99 ± 0.22 a
Clorofila total	Jalapeño	9.68 ± 2.80 a	2.08 ± 0.20 b	3.63 ± 2.96 b
	Serrano	1.87 ± 0.08 a	1.99 ± 0.55 a	1.48 ± 0.10 a
Carotenoides	Jalapeño	0.85 ± 0.35 c	7.00 ± 0.89 a	3.25 ± 0.94 b
	Serrano	8.41 ± 1.74 a	8.87 ± 1.08 a	7.05 ± 1.28 a

Medias ± DE con letras distintas en cada variedad indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Los resultados sugieren que aún con concentraciones bajas, el TI puede ser muy tóxico y alterar la concentración de pigmentos fotosintéticos. Sin embargo, la aplicación de bajas dosis puede provocar efectos bioestimulantes como los observados en la concentración de carotenoides. Respuestas similares que han observado en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) cultivadas en hidroponía con silicio (60 y 125 mg L⁻¹) (Trejo-Téllez *et al.*, 2020), así mismo, elementos como el lantano (La) estimulan la biosíntesis de clorofila a, b, y clorofilas totales en plantas de chile pimiento después de 30 d de aplicación (García Jiménez *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

Las plantas de chile Jalapeño son más susceptibles a la exposición de TI, mientras que las plantas de chile Serrano son más resistentes. En Jalapeño el TI disminuye la concentración de clorofila a, b, la relación clorofila a/b y las clorofilas totales, pero incrementa la concentración de carotenoides.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. García-Jiménez, L. I. Trejo-Téllez, D. Guillén-Sánchez & F. C. Gómez-Merino, "Vanadium stimulates pepper plant growth and flowering, increases concentrations of amino acids, sugars and chlorophylls, and modifies nutrient concentrations", PLoS One, Vol. 13, 8, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201908>
2. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture". Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633-650.
3. C. Ferronato, S. Carbone, Vianello & A. L. Vittori, "Thallium toxicity in mediterranean horticultural crops (*Fragaria vesca* L., *Mentha pulegium* L., *Ocimum basilicum* L.)". Water, Air and Soil Pollution, Vol. 227, 10, 2016, pp. 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3027-4>
4. G. Kazantzis, "Thallium in the environment and health effects". Environmental Geochemistry and Health, Vol. 22, 2000, pp. 275-280. <https://doi.org/10.1023/A:1006791514080>
5. H. Xu, Y. Luo, P. Wang, J. Zhu, Z. Yang & Z. Liu, "Removal of thallium in water/wastewater: A review", Water Research, Vol. 165, 2019, 114981, 3; <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114981>
6. J. J. Rodríguez-Mercado & M. A. Altamirano-Lozano, "Genetic toxicology of thallium: A review", Drug and Chemical Toxicology, Vol. 36, 3, 2013, pp. 369-383. <https://doi.org/10.3109/01480545.2012.710633>
7. J. Pavlíčková, J. Zbírál, M. Smatanová, P. Houserová, E. Cizmárová, S. Havlíková & V. Kubán, "Uptake of thallium from artificially and naturally contaminated soils into rape

- (*Brassica napus* L.)". Journal of Agricultural Food Chemistry, Vol. 53, 8, 2005, pp. 2867-2871. <https://doi.org/10.1021/jf048042k>
8. L. I. Trejo-Téllez, A. García-Jiménez, H. F. Escobar-Sepúlveda, S. M. Ramírez-Olvera, J. J. Bello-Bello & F. C. Gómez-Merino, "Silicon induces hormetic dose-response effects on growth and concentrations of chlorophylls, amino acids and sugars in pepper plants during the early developmental stage". PeerJ, Vol. 8, 2020, e9224, <https://doi.org/10.7717/peerj.9224>
 9. N. Sumanta, C. I. Haque, J. Nishika & R. Suprakash, "Spectrophotometric analysis of chlorophylls and carotenoids from commonly grown fern species by using various extracting solvents", Research Journal of Chemical Sciences, Vol. 4, 9, 2014, pp. 63-69. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1340072>
 10. P. Madejón, J. M. Murillo, T. Marañón, & N. W. Lepp, "Factors affecting accumulation of thallium and other trace elements in two wild *Brassicaceae* spontaneously growing on soils contaminated by tailings dam waste", Chemosphere, Vol. 67, 1, 2007, pp. 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.008>
 11. S. Galván-Arzate & A. Santamaría, "Thallium toxicity". Toxicology Letters, Vol. 99, 1, 1998, pp. 1-13. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(98\)00126-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(98)00126-x)
 12. T. Xiao, J. Guha, D. Boyle, C. Q. Liu, B. Zheng, G. C. Wilson, A. Rouleau & J. Chen, "Naturally occurring thallium: a hidden geoenvironmental health hazard?", Environment International, Vol. 30, 4, 2004, pp. 501-507. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2003.10.004>
 13. SAS Institute Inc., "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.

TRATAMIENTO DE PLAGUICIDAS EN AGUA DE CUENCAS MEDIANTE EL USO DE TECNOLOGÍAS VERDES

David Alfonso Camarena-Pozos, Oriana Landa-Cansigno, Javier Antonio Arcibar-Orozco, José Octavio Saucedo-Lucero, Norma Claudia Calderón-Rosas, Norma Liliana Cruz-Ortiz, Catalina Leticia de la Rosa-Juárez, Miroslava Alejandra Silva-Goujon

Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas, CIATEC, AC.
dcamarena@ciatec.mx

RESUMEN

El agua es un recurso que cuenta actualmente con diferentes presiones para su uso, y su disponibilidad depende tanto de su cantidad como de su calidad. En Guanajuato, la cuenca del Río Turbio es ampliamente reconocida por la Comisión Nacional del Agua como contaminada y fuertemente contaminada. El papel de la agricultura en el problema ambiental de la cuenca es más complejo, ya que no sólo se afecta por el uso del agua del río Turbio como agua de riego, sino que también contribuye al ser una fuente difusa de contaminación por plaguicidas y herbicidas. La presencia de estos contaminantes y su dispersión pueden traer como consecuencia efectos adversos a la salud humana, así como la afectación de la biodiversidad en la zona.

El presente proyecto tuvo como objetivo principal el desarrollar e implementar una tecnología de tratamiento de agroquímicos tóxicos en agua, mediante el uso de tecnologías verdes. Para ello se consideraron los siguientes objetivos específicos: a) Elaborar el diagnóstico del estado actual de la calidad del agua de la cuenca del Río Turbio, b) Implementar un sistema de tratamiento de agroquímicos tóxicos en agua basado en humedales construidos en conjunto con un proceso de bioadsorción, c) Difundir los resultados sobre el estado actual de la cuenca del Río Turbio y concientizar el uso de agroinsumos tóxicos y su relación con la afectación de los cuerpos de agua, y d) Facilitar la adopción de la tecnología de tratamiento de agua hacia las comunidades agrícolas.

Entre los resultados del diagnóstico se encontró la presencia de plaguicidas organoclorados como el aldrín, clordano, p,p-DDT, dieldrín, endrín, heptacloro, hexaclorobenceno y metoxicloro los cuales superan los criterios recomendados por la Ley Federal de Derechos. Así también, se diseñó y construyó un sistema de tratamiento que consistió en una configuración tipo lineal compuesta de 8 módulos de humedales construidos adicionado con un sistema de adsorción con biocarbonos. El sistema tiene el potencial para reducir una gran diversidad de contaminantes, entre ellos los plaguicidas organoclorados, organofosforados y herbicidas, además de disminuir hasta en un 90% los parámetros de calidad de agua como la demanda química de oxígeno y los sólidos suspendidos totales.

Como tercera y cuarta actividad se desarrollaron talleres a los agricultores de los municipios de la zona de estudio, con el fin de difundir los resultados sobre el diagnóstico del agua del río Turbio, y de concientizar sobre el uso de plaguicidas y su relación con la afectación de los cuerpos de agua. Dentro de estos talleres, se realizó la demostración didáctica del funcionamiento de los humedales. Este tipo de talleres tuvo una respuesta muy positiva en la transformación del conocimiento por parte de los agricultores. Consideramos que se requiere continuar haciendo promoción sobre el uso de humedales construidos, con el fin de dar a conocer a más usuarios dicha solución y seguir sensibilizando a más agricultores sobre los beneficios de su implementación.

INTRODUCCIÓN

El agua es el recurso natural más importante para el ser humano y para el desarrollo de sus actividades económicas y productivas. Para el estado de Guanajuato, la cuenca del río Turbio perteneciente a la región hidrológica número 12 Lerma-Santiago (RH-12) (Diario Oficial de la Federación, 2003), representa una fuente de abastecimiento de agua para la agricultura en diversos municipios del estado como San Francisco del Rincón, Purísima del Rincón, Manuel Doblado, entre otros. Esta cuenca comprende desde el origen del río Turbio en el cerro de San Juan, pasando por una derivación en el municipio de Purísima del Rincón donde toma el nombre de río Isabelota, hasta donde se localiza la Estación Hidrométrica Las Adjuntas.

El río Turbio está incluido de forma total en esta cuenca y es el más importante. Se considera un acuífero profundo, aunque esto es variable en algunas de sus porciones y se clasifica como un acuífero libre, con partes semiconfinadas. El río se caracteriza por su régimen intermitente, con un caudal medio anual de unos 70 hm³ (millones de metros cúbicos). Sin embargo, la fuerte contaminación es ampliamente reconocida por la Comisión Nacional del Agua, que a través del Sistema Nacional de Información del Agua clasifica el agua como contaminada y fuertemente contaminada en varios puntos de monitoreo (CONAGUA, 2020). Dicha clasificación surge al exceder diferentes parámetros biológicos, físicos y químicos como lo son la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), demanda química de oxígeno (DQO), oxígeno disuelto (O₂) y sólidos totales (ST). Además, se ha reportado la presencia de metales pesados y sales solubles como el sodio (CIATEC y CEAG, 2019). El origen de estos contaminantes proviene de las descargas de aguas residuales domésticas e industriales al río, principalmente de las ciudades de León y San Francisco del Rincón (CIATEC, COLMICH y Comisión de Cuenca del Río Turbio, 2012). De manera particular, existe una considerable aportación de aguas residuales de tipo industrial provenientes del sector cuero-calzado en León y la zona conurbada.

Es importante mencionar que el sector agrícola tiene especial importancia en esta zona. La superficie sembrada de los municipios de San Francisco del Rincón, Purísima del Rincón y Manuel Doblado abarcan aproximadamente 55 mil hectáreas, de las cuales para el municipio de Manuel Doblado corresponde el 43%, San Francisco del Rincón el 30% y Purísima del Rincón el 27%. Además de la superficie sembrada en el municipio, existe una diversidad de cultivos entre los que destacan el maíz (21,279 hectáreas), sorgo (15,751 hectáreas) y trigo (5,430 hectáreas). Otros cultivos de importancia comercial son el ajo, avena, brócoli, cebada, cebolla, chile verde, col, frijol, garbanzo, papa, tomate y zanahoria. Esto representa un valor de producción cercano a los 2,600 millones de pesos, que corresponde a un 8% del valor de producción en todo el estado, de acuerdo a los registros del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2019).

A pesar de que la zona del Bajío de Guanajuato tiene un modelo de desarrollo agrícola con elevados rendimientos y valores de producción, ha generado impactos del agroecosistema mediante la alteración y vulnerabilidad de sus funciones, debido a la gran cantidad de plaguicidas utilizados (Pérez-Olvera *et al.*, 2017). De acuerdo al trabajo previamente mencionado, 23 de los 29 ingredientes activos de plaguicidas utilizados y recomendados tanto por el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG) y productores de la zona del Bajío, corresponden a plaguicidas altamente peligrosos (PAP). Recientemente, se ha reportado que los plaguicidas cipermetrina, lambda-cialotrina, clorpirifos, fenvalerato y malatión, además de los herbicidas topamezone, 2,4-D, glifosato y paraquat son los más utilizados en la cuenca del río Turbio. De acuerdo a los resultados de la valoración de impacto ambiental, los plaguicidas antes mencionados son considerados de poco a moderadamente peligrosos para la salud y de alto a muy alto peligro al ambiente (Rangel-Ortiz *et al.*, 2023).

ANTECEDENTES

El papel de la agricultura en el problema ambiental de la zona de estudio es más complejo, ya que no sólo se le afecta por el riego usando el agua del río, sino que también contribuye al ser una fuente difusa de contaminación. Así lo demuestran los monitoreos en el año 2010 y 2012 (CIATEC, COLMICH y Comisión de Cuenca del Río Turbio, 2012), donde se detectó la presencia de herbicidas como el 2,4-D en concentraciones de 1.32 a 4.11 µg/L, plaguicidas organoclorados como el hexaclorobenceno (0.32 µg/L), p,p'-DDE (0.25 µg/L) y endrin aldehído (0.13 µg/L), y de plaguicidas organofosforados como es el protiofos (hasta 25.38 µg/L) en varios puntos del río Turbio dentro de los municipios de León, San Francisco y Purísima del Rincón.

Se ha reportado que el uso desmesurado de estos compuestos puede traer como consecuencia efectos adversos a la salud humana. Entre los síntomas a corto plazo se encuentran: dolor de cabeza, mareo, irritaciones en la piel, visión borrosa, náuseas y vómito. Otro tipo de efectos adversos son el daño en la función inmunológica, alteración endócrina (Mandrich, 2014), abortos espontáneos y prematuros, retrasos en el desarrollo neurológico de niños (Cioroiu *et al.*, 2010; Muñoz-Quezada *et al.*, 2012), cáncer (próstata, pulmón, estómago, mama, leucemia y linfomas) (Ordoñez-Beltrán *et al.*, 2019), así como enfermedades neurodegenerativas (Allsop *et al.*, 2015). Así mismo, se ha documentado que los plaguicidas en el ambiente pueden provocar la destrucción de la biodiversidad (Brühl y Zaller, 2019). Existen casos que han sido reportados, como es la disminución de la biomasa de insectos de más del 70% en las últimas décadas en Alemania, la reducción a la mitad de las poblaciones de aves de las tierras de cultivo en Europa y los efectos sobre los polinizadores (Potts *et al.*, 2010; Hallmann *et al.*, 2017).

Estos problemas de contaminación y disponibilidad afectan a la población rural aledaña al río, considerada de escasos recursos (CIATEC y SMAOT, 2020). Esta población abarca a los 15,686 habitantes en la parte de los municipios de San Francisco y Purísima del Rincón, y de 6,507 habitantes en el municipio de Manuel Doblado.

Bajo este contexto, el objetivo general de este trabajo fue desarrollar e implementar una tecnología de tratamiento de agroquímicos tóxicos en agua, mediante el uso de humedales construidos y un sistema de bioadsorción para la cuenca del río Turbio.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el desarrollo de este proyecto se consideraron 3 actividades principales:

a) Elaboración del diagnóstico actualizado de la calidad del agua de la cuenca del Río Turbio, considerando el monitoreo de herbicidas, plaguicidas organoclorados y organofosforados. Para ello se realizó una campaña de muestreo para el análisis de agua superficial (15) y agua subterránea (5), considerando parámetros analizados en campo como pH, temperatura, oxígeno disuelto, conductividad, turbidez, salinidad, resistividad, potencial óxido-redox, sólidos disueltos totales mediante el uso de un medidor multiparamétrico Hanna HI98194. Así también, se analizó la demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) de acuerdo a la NMX-AA-028-SFCI-2001, demanda química de oxígeno (DQO) de acuerdo a la NMX-AA-030/2-SFCI-2011 y 42 plaguicidas dentro de la clasificación de organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y herbicidas mediante GC-µECD, GC-MS, HPLC-DAD y LC/MS-MS.

b) Desarrollo e implementación de un sistema de tratamiento de agroquímicos tóxicos en agua basado en humedales construidos en conjunto con un proceso de bioadsorción. Para este punto se realizó el escalamiento de un sistema evaluado previamente a nivel laboratorio (Baltazar-Campos *et al.*, 2020). Este nuevo sistema consistió en una configuración tipo lineal compuesta de 8 módulos de humedales construidos en 4 secciones, interconectados entre sí. El volumen estimado de tratamiento

fue de 500 L/día, dado el tiempo de retención de 60 horas. La construcción de los humedales requirió trabajos para la adecuación del terreno, la perforación de las fosas con una pendiente del 3%, y la colocación de geomembrana de HDPE de 1 mm de espesor. Como sustrato se utilizó piedra volcánica conocido como tezontle de 1 a 5 cm de diámetro, y grava de 3 cm de diámetro para la separación de cada sección. Así también se realizó el levantamiento de una base para un tanque elevado de recepción (10,000 L), la excavación para la colocación de un tanque de almacenamiento del mismo volumen y registros de agua. Las conexiones de realizaron utilizando tubería de PVC de 2 y 4". Se utilizó a la planta *Typha domingensis* como medio vegetal de los humedales, la cual estaba adaptada a la concentración de contaminantes del río Turbio. Como proceso adicional, se instaló un sistema de bioadsorción utilizando carbón activado comercial (cáscara de coco), el cual fue instalado a la salida del tanque de almacenamiento enterrado.

c) Difusión de resultados sobre el estado actual de la cuenca del Río Turbio a las comunidades agrícolas y la concientización en el uso de agroinsumos tóxicos y su relación con la afectación de los cuerpos de agua, y d) Facilitar la adopción de la tecnología de tratamiento de agua hacia las comunidades agrícolas. Para ello se realizaron encuestas y talleres participativos, como metodología de análisis social, con el fin de obtener información a partir del involucramiento e interacciones de los actores sociales de una manera dinámica. Como parte de las actividades en los talleres se preparó material adecuado para la difusión de resultados y se hicieron recomendaciones para las prácticas de manejo de plaguicidas. Así también, se realizó la demostración didáctica del funcionamiento de los humedales construidos mediante el uso de modelos a escala. Para estos talleres se realizó la invitación a comunidades de los municipios de San Francisco del Rincón y Purísima del Rincón.

RESULTADOS

De acuerdo a los análisis de los diferentes puntos de monitoreo (Figura 1) y tomando como referencia la escala de clasificación de calidad del agua de CONAGUA (la cual abarca categorías que van de excelente a fuertemente contaminada), se encontró que el agua del río Turbio se considera como Contaminada y Fuertemente contaminada con base a la concentración de DBO₅, SST y DQO (Tabla 1).



Figura 1. Recolección y preservación de muestras de agua provenientes de agua superficial y subterránea en la cuenca del río Turbio.

Tabla 1. Concentración determinada y clasificación de calidad de agua superficial

Fuente	ID	DBO ₅ (mg/L)	SST (mg/L)	DQO (mg/L)
Turbio	RTP-01	49.2	216.7	164.3
	RTP-02	50.6	240.0	151.2
	RTP-03	47.9	223.3	144.4
	RTP-04	49.2	206.7	149.4
	RTP-07	32.8	213.3	126.3
	RTP-08	13.4	176.7	54.8
	RTP-10	6.7	243.3	44.8
	RTP-13	67.5	470.0	204.2
	RTP-14	50.2	366.7	139.4
	RTP-15	47.5	310.0	124.6
RTP-11	20.2	293.3	79.7	
Isabelota	RTP-05	33.7	713.3	181.1
	RTP-06	34.6	996.7	149.4
	RTP-09	135.6	463.3	413.3
	RTP-12	95.7	760.0	348.0

Categorías de calidad del agua: Amarilla – aceptable, naranja – contaminada y rojo – fuertemente contaminada.

Para el caso del agua subterránea, la calidad del agua se basó en parámetros como la conductividad, sólidos disueltos, arsénico y cromo (Tabla 2). De acuerdo con las concentraciones encontradas, el cromo representa una problemática en los puntos monitoreados al catalogarse como agua no apta como fuente de abastecimiento de agua potable. Aunado a esto, hay puntos donde la conductividad eléctrica es catalogada como indeseable para riego debido a la presencia posiblemente de iones como cloruros, nitratos, sodio, entre otros.

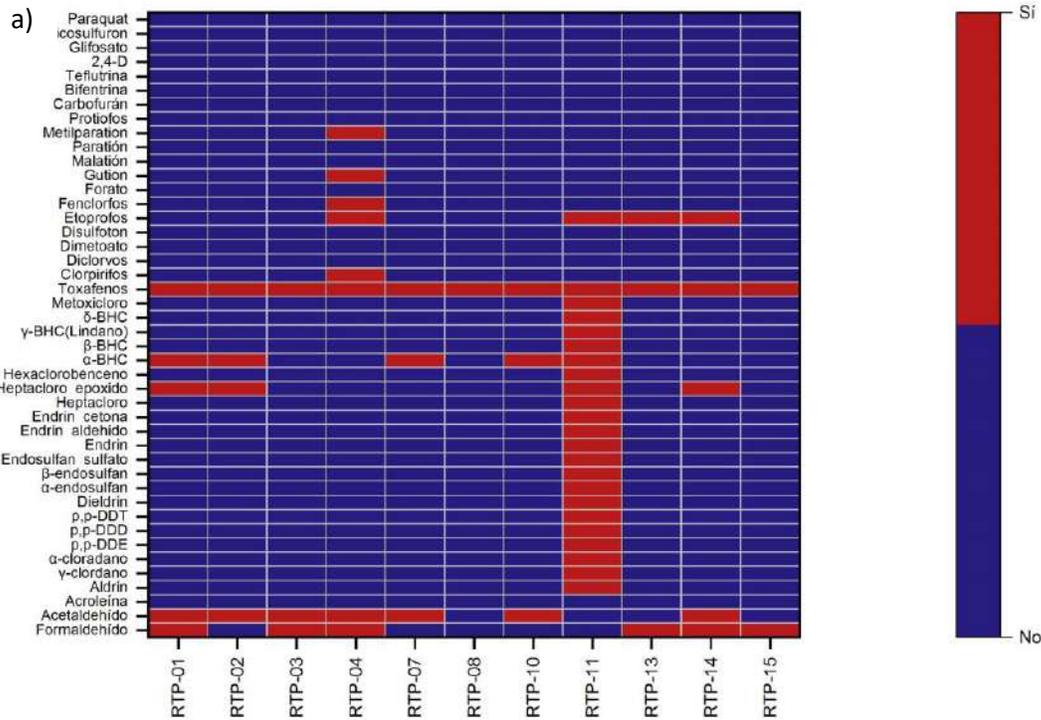
Tabla 2. Concentración determinada y clasificación de calidad de agua subterránea

Fuente	ID	Conductividad (µS/cm)	Sólidos disueltos totales (mg/L)	As (µg/L)	Cr (mg/L)
Acuífero Turbio	RTP-16	5,119.0	2,555.0	4.60	0.39
	RTP-17	5,855.0	2,932.0	6.14	0.15
	RTP-18	1,836.0	915.0	5.28	0.14

	RTP-19	783.0	392.0	11.02	0.16
	RTP-20	668.0	334.0	6.08	0.18

Categorías de calidad de agua de acuerdo a diferentes parámetros. **a) Conductividad:** Roja – Indeseable para riego, Naranja – Dudosa, Amarilla – Permisible, Verde – Buena, Azul – Excelente. **b) Sólidos disueltos totales:** Roja – Indeseable para riego, Naranja – Cultivos tolerantes, Amarilla – Cultivos con manejo especial, Verde – Cultivos sensibles, Azul – Excelente. **c) Arsénico (As):** Rojo – No apta, Verde – Apta como fuente de abastecimiento de agua potable, Azul – Excelente, potable. **d) Cromo (Cr):** Rojo – Agua no apta como fuente de abastecimiento de agua potable, Azul – Potable, excelente.

Este estudio demostró la presencia de plaguicidas en agua del río Turbio (Figura 2). Los puntos de monitoreo RTP-05 y RTP-11 se destacaron por la presencia de plaguicidas organoclorados, mientras que en el punto RTP-04 se detectó la presencia de plaguicidas organofosforados como clorpirifos, etoprofos, fenclorfos, gutión y metilparatión. Se destaca también la presencia de toxafeno en todas las muestras de agua.



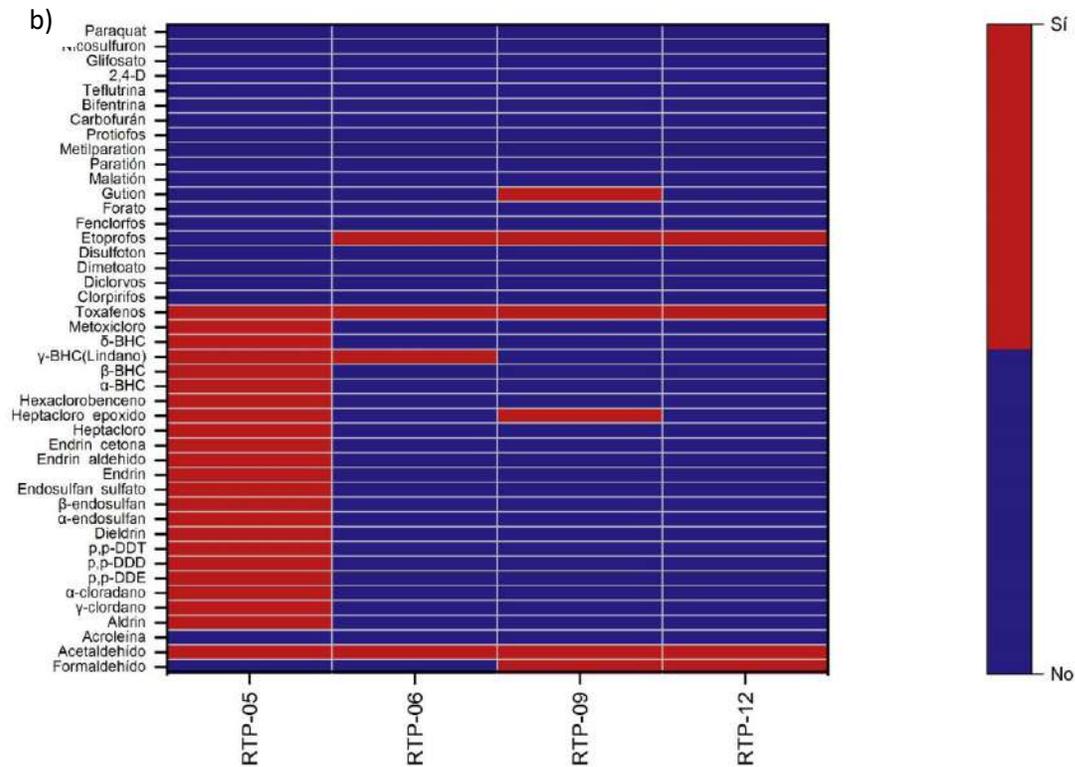


Figura 2. Contaminantes orgánicos detectados en muestras superficiales de: a) Río Turbio, b) Río Isabelota. En rojo: Presencia del contaminante. En Azul: Ausencia del contaminante.

Es importante mencionar la presencia de plaguicidas que ya están discontinuados o prohibidos para su venta y uso (como es el caso del aldrín, endrín, DDT, toxafeno). Esto podría deberse a fuentes comerciales locales o por fuentes acumuladas en el suelo que, por diferentes procesos durante la época de lluvias, podrían estar llegando al agua del río Turbio. No se detectó la presencia de herbicidas.

Una vez identificada la situación actual de la contaminación del agua en la cuenca del Río Turbio, se comenzó la segunda actividad que consistió en el diseño, construcción y adaptación de un sistema de humedales construidos adicionado con un sistema de bioadsorción, el cual fue producto del escalamiento de un sistema de nivel laboratorio a escala piloto (Figura 3 y 4).



Figura 3. Construcción de sistema de tratamiento de agua proveniente del río Turbio a base de humedales construidos y sistema de bioadsorción.



Figura 4. Adaptación del sistema de humedales construidos para depuración de agua proveniente del río Turbio por un periodo de 5 meses.

El sistema completo de humedales-bioadsorción demostró tener el potencial para reducir una gran diversidad de contaminantes encontrados en el río Turbio, entre ellos plaguicidas tipo aldehído (acroleína), plaguicidas organoclorados (aldrín, dieldrín, p,p-DDT, hexaclorobenceno, beta-hexaclorociclohexano) organofosforados (clorpirifos) y herbicidas (glifosato). Se destaca también remoción de cromo total, así como de acetaldehído y formaldehído, los cuales están relacionados como subproductos de la industria curtidora. (Tabla 3).

Tabla 3. Eficiencias de remoción del sistema de humedales construidos y adsorción

Parámetro	Entrada al humedal <u>Agua del río Turbio</u>	Salida de humedal después de 96 h	Remoción parcial (%)	Salida de humedales + adsorbedor	Remoción total (%)
DQO (mg/L)	2782.0	632.4	77.3	127.3	95.4
Sólidos Totales (mg/L)	4533.3	2585.5	68.4	816.6	82.0
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	650.0	16.4	97.5	5.0	99.2
Sulfuros (mg/L)	80.6	30.7	61.9	1.3	98.4
Glifosato (ug/L)	68.9	23.4	87.8	2.86	95.8
Formaldehído (ug/L)	174.7	145.6	16.7	<LPC	100
Acetaldehído (ug/L)	16.15	4.68	71.0	<LPC	100
Acroleína (ug/L)	50.86	49.68	2.3	2.7	94.7
Hexaclorobenceno (ug/L)	1.37	<0.236	100	<0.236	100
Beta-BHC (ug/L)	1.37	1.19	13.1	<0.236	100
Aldrín (ug/L)	1.62	0.47	71.0	<0.236	100
Dieldrín (ug/L)	1.40	<0.236	100	<0.236	100
p,p-DDT (ug/L)	1.52	0.44	71.1	<0.235	100
Clorpirifos (ug/L)	149.4	30.45	79.6	<0.236	100
Cromo (mg/L)	9.23	0.09	99.0	0.009	99.9

LPC: Límite práctico de cuantificación

Tomando en cuenta los parámetros de sólidos suspendidos totales (SST) fue posible clasificar la calidad del agua tratada pasando de 650 mg/L (Fuertemente contaminada) a <25 mg/L (Excelente) a la salida de los humedales. Para el caso de la DQO hubo una remoción del 77.3% a la salida de los humedales, llegando a 95.4% a la salida del sistema de bioadsorción. La comparación visual de la muestra de entrada y salida del sistema de tratamiento completo se observa en la Figura 5.



Figura 5. Comparación de muestras de agua a la entrada y a la salida del sistema de tratamiento.

Como parte de las actividades propuestas se desarrollaron talleres a los agricultores de los municipios de la zona de estudio. Participaron agricultores de las comunidades de San Ángel, La Providencia, La Descubridora, San Bernardo, El Llano, Purísima, El Maguey y Jala de Cánovas en el municipio de Purísima del Rincón, y en San Roque de Montes, El Ramillete, Santa Rosa Plan de Ayala en el municipio de San Francisco del Rincón (Figura 6).



Figura 6. Talleres participativos desarrollados en Purísima del Rincón (arriba) y San Francisco del Rincón (abajo)

El objetivo de los talleres fue difundir los resultados sobre el diagnóstico actualizado del agua del río Turbio y de concientizar sobre el uso de plaguicidas. Esto pudo realizarse gracias a que los

asistentes, a través de las preguntas detonadoras realizadas, pudieron profundizar acerca del uso de plaguicidas y su afectación sobre los cuerpos de agua. Parte de la información recabada en estos talleres puede consultarse en Rangel-Ortiz *et al.*, 2023.

Este tipo de talleres tuvo una respuesta muy positiva en la transformación del conocimiento por parte de los agricultores. Como parte del aprendizaje consideramos que se requiere continuar haciendo promoción sobre el uso de humedales construidos para la depuración del agua de cuencas, con el fin de dar a conocer a más usuarios dicha solución y seguir sensibilizando a más agricultores sobre los beneficios de su implementación.

CONCLUSIONES

El estudio demostró la contaminación de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el agua del río Turbio, destacando la presencia de plaguicidas que ya están discontinuados o prohibidos para su venta y uso. Además, la concentración de cromo, acetaldehído y formaldehído cuantificada en las muestras de agua superficial y subterránea demuestran la influencia de las descargas de la industria curtidora.

El sistema propuesto de humedales construidos y bioadsorción demostró tener el potencial para reducir una gran diversidad de los contaminantes antes mencionados, resaltando la disminución de parámetros que influyen en la calidad del agua como los sólidos suspendidos totales y la demanda química de oxígeno.

Como parte del aprendizaje en los talleres participativos observamos una ventana de oportunidad para la realización de campañas de concientización ambiental y de salud hacia los agricultores. Además, se requerirá de la sinergia entre agricultores, proveedores e instituciones competentes para llevar a cabo capacitaciones hacia los usuarios de plaguicidas en la cuenca del río Turbio.

BIBLIOGRAFÍA

M. Allsop, C. Huxdorff, P. Johnston, D. Santillo y K. Thompson, Pesticides and our health a growing concern. Greenpeace Research Laboratories, School of Biosciences, Innovation Centre, University of Exeter., UK. 2015.

H. Baltazar-Campos, D. Orona-Tamayo, E. Kato Miranda y J.A. Arcibar-Orozco, Remediación de la contaminación del agua del Río Turbio mediante humedales artificiales. Revista Latinoamericana del Ambiente y las Ciencias, 11(28), 2020, pp. 376-380.

C.A. Brühl y J.G. Zaller, Biodiversity decline as a consequence of an inappropriate environmental risk assessment of pesticides. Front. Environ. Sci., 7, 177. 2019.

Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), Colegio de Michoacán (COLMICH) y Comisión de Cuenca del Río Turbio, Proyecto de saneamiento y servicios ambientales del río Turbio FORDECYT. Reporte Final. Guanajuato, México. 2012.

Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC) y Comité Estatal del Agua de Guanajuato (CEAG), Análisis de alternativas de saneamiento del río Turbio en el tramo del Parque Industrial de la ciudad de León al puente de cruce de la Carretera Estatal 37 con el río Turbio en la localidad de El Maguey del municipio de San Francisco del Rincón. Guanajuato, México. 2019. Acuerdo No. CEAG-CIATEC-2019-007.

Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC) y Secretaría de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial (SMAOT), Estudio técnico de preinversión para la implementación de acciones de ordenamiento en la parte media del Río Turbio. Reporte final. 2020.

M. Cioroiu, D. Tarcau, R. Mocanu, S. Cucu-Man, B. Nechita, M. Luca, Organochlorine pesticides in colostrums in case of normal and preterm labor (Iasi, Romania). *Science of the Total Environment* 408, 2010, pp. 2639–2645.

Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), Sistema Nacional de Información del Agua. 2020. Obtenido de <https://sina.conagua.gob.mx/sina/index.php?p=6>

Diario Oficial de la Federación (DOF), Acuerdo por el que se dan a conocer las denominaciones y la ubicación geográfica de las diecinueve cuencas localizadas en la zona hidrológica denominada Río Lerma-Chapala, así como la disponibilidad media anual de las aguas superficiales en las cuencas que comprende dicha zona hidrológica. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (15 de octubre de 2003).

C.A. Hallmann, M. Sorg, E. Jongejans, H. Spiepel, N. Hofland, H. Schwan, W. Stenmans, A. Müller, H. Sumser, T. Hörrén, D. Goulson y H. de Kroon, More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLoS One* 12(10). 2017.

L. Mandrich, Endocrine disruptors: The hazards for human health. *Cloning & Transgenesis* 3(1), 2014.

M.T. Muñoz-Quezada, V. Iglesias, B. Lucero, K. Steenland, D. B. Barr, K. Levy, P. B. Ryan, S. Alvarado y C. Concha, Predictors of exposure to organophosphate pesticides in schoolchildren in the Province of Talca, Chile. *Environment International*, 47, 2012, pp. 28-36.

NMX-AA-028-SFCI-2001 - Análisis de agua - Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO₅) y residuales tratadas - Método de prueba

NMX-AA-030/2-SFCI-2011 - Análisis de agua - Determinación de la Demanda Química de Oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba - Parte 2 - Determinación del índice de la Demanda Química de Oxígeno – Método de tubo sellado a pequeña escala.

V. Ordoñez-Beltrán, M.N. Frías-Moreno, H. Parra-Acosta y M.E. Martínez-Tapia, Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud. *Revista de Toxicología*, 36(2), 2019, pp. 148-162.

M.A. Pérez-Olvera, H. Navarro-Garza, D. Flores-Sánchez. N. Ortega-García y E. Tristán-Martínez, Plaguicidas altamente peligrosos utilizados en el Bajío de Guanajuato en Los Plaguicidas Altamente Peligrosos en México. *Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, A.C. (RAPAM)*. 2017.

S.G. Potts, J.C. Biesmeijer, C. Kremen, P. Neumann, O. Schweiger y W.E. Kunin, Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. 25, 2010, pp. 345–353.

E. Rangel-Ortiz, O. Landa-Cansigno, J. Páramo-Vargas y D.A. Camarena-Pozos, D. A., Prácticas de manejo de plaguicidas y percepciones de impactos a la salud y al medio ambiente entre usuarios de la cuenca del Río Turbio, Guanajuato, México. *Acta Universitaria*, 33, 2023, pp. 1–26.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), Datos abiertos: Estadística de producción agrícola 2019. Obtenido de https://www.gob.mx/siap/archivo/acciones_y_programas

COMPARACIÓN PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y ANTIOXIDANTES DE HORTALIZAS DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICA Y COMERCIAL

Zacnicté Olguín¹, Esther Ramírez Moreno¹, Quinatzin Yadira Zafra Rojas¹, Nelly del Socorro Cruz Cansino¹, José Arias Rico², Javier Añorve Morga³ Deyanira Ojeda Ramírez⁴ y José Alberto Ariza Ortega¹

¹ Área Académica de Nutrición, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ² Área Académica de Enfermería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ³ Área Académica de Química, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ⁴ Área Académica de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. olguinh@uaeh.edu.mx

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo comparar algunas propiedades físicas, químicas y antioxidantes en vegetales (acelga, betabel, cilantro, espinaca, lechuga, rábano, zanahoria y jitomate) de producción ecológica y comercial. Los productos ecológicos se cultivaron y obtuvieron de huertos ecológicos con metodologías estandarizadas para su implementación mientras que las muestras comerciales se obtuvieron de un proveedor local. El mismo día de compra y cosecha se evaluó color, textura, humedad y cenizas en el producto fresco sin pelar. En las muestras liofilizadas se determinaron compuestos bioactivos (compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, clorofila a y b, β -carotenos, antocianinas, betalainas y licopeno), actividad antioxidante usando el ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS•+), 2,2'-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y ensayos de poder antioxidante reductor férrico (FRAP), y actividad quelante. Las hortalizas ecológicas presentaron mejores características de color (alta luminosidad e intensidad) que las muestras comerciales y, según el valor de (ΔE), esta es una diferencia que puede ser percibida por el ojo humano. Del mismo modo, las hortalizas ecológicas resultaron más turgentes que las muestras comerciales. El contenido de compuestos bioactivos se encontró en mayor concentración en vegetales producidos ecológicamente y se correlacionó positivamente con la capacidad antioxidante. Es importante realizar más estudios en los que se pueda determinar el efecto sobre la salud de estas hortalizas cuando se integran en la dieta y así poder recomendar su inclusión en la dieta como estrategia de sostenibilidad en la producción de hortalizas para autoconsumo.

INTRODUCCIÓN

A partir del año 2000 se establecieron en Estados Unidos procesos de certificación para la producción de alimentos con metodologías respetuosas con los ecosistemas sin utilización de fertilizantes o pesticidas que comprometan el medio ambiente; a este proceso se le denomina "producción orgánica" lo que implica trámites administrativos y un costo de pago económico que absorbe el productor (Browne et al., 2001). En consecuencia, se implementó el concepto de agricultura orgánica en los sistemas agrícolas centrado en la necesidad de desarrollar tecnologías y prácticas que no tengan efectos adversos sobre el medio ambiente (bienes y servicios), pero que sean accesibles y eficaces para los agricultores, lo que conduce a mejoras en la productividad alimentaria. En este proceso, se puede entender que todos siguen los estándares de un sistema orgánico, pero con el término de "producción ecológica" (Olesen & Bindi, 2002). Este proceso ecológico no cuenta con certificación; sólo es validado por las prácticas éticas del productor responsable (Willer et al., 2008).

Una estrategia de sustentabilidad es la producción de alimentos para el autoconsumo, utilizando huertos verticales, techos verdes y huertos escolares ecológicos que pueden ser una posibilidad cuando sea factible, y en ellos se pueden producir hortalizas de consumo frecuente, permitiendo el acceso a estos productos vegetales en todo momento (Amaya-Castellanos et al., 2015; Brand-Williams et al., 1995). Estas estrategias son metodologías que cuidan el medio ambiente, evitan el desperdicio de alimentos a través de la producción de composta, contribuyen a la economía de las familias y brindan alimentos de mejor calidad (mayor contenido de compuestos bioactivos, fibra dietética, minerales y otros) (Sant'Anna et al., 2013).

.Este sistema de producción de alimentos resulta más atractivo para los consumidores, ya que contribuye con el suministro de alimentos y a disminuir el tiempo de almacenamiento y, por lo tanto, preservar las calidad higiénica y nutricional de los vegetales (Luciana et al., 2017), incluso a las percibidas por los sentidos (sabor, olor, color, textura, forma y apariencia) (Huyskens-Keil & Schreiner, 2006; Schifferstein et al., 2018; Thomsen et al., 2018). Las verduras que se producen con métodos orgánicos pueden tener concentraciones más altas de estos compuestos (Tena & Mart, 2020) debido a que las plantas son expuestas a condiciones de estrés controlado (donde no se lleva a cabo el proceso de mineralización o fertilización inorgánica) (Divya et al., 2014; Righetti et al., 2021). Como consecuencia, estos mecanismos de protección promueven un aumento de compuestos bioactivos durante el crecimiento de las plantas en sistemas de producción ecológicos. Si no se cuidan las condiciones de manejo y almacenamiento (tiempo, humedad, temperatura y pH) en forma controlada durante la postcosecha, los tejidos de las plantas se ven afectados, lo que modificará la concentración de los compuestos bioactivos por pérdidas o degradación de estos. Teniendo en cuenta la escasa información que hay de cómo los sistemas de producción influyen en la calidad física y química de las hortalizas en un sistema ecológico, este estudio tiene como objetivo comparar algunas propiedades físicas (color y textura) y propiedades antioxidantes en hortalizas de producción ecológica frente a productos comerciales.

METODOLOGÍA

Las muestras comerciales se obtuvieron de un proveedor local de Pachuca Hidalgo, México, eligiendo el color y la textura considerando madurez comercial sin laceraciones ni lesiones externas, como lo seleccionaría un consumidor local. La producción ecológica se obtuvo en la misma ciudad, con clima templado seco y una temperatura media anual de 15 °C con vientos del noreste durante todo el año (INEGI, 2010). La producción se llevó a cabo de la siguiente manera: se generó composta casera, la cual se dejó madurar; el sustrato de siembra preparado con composta y tierra (50:50) se colocó en contenedores de madera y se sembraron 6 plantas por contenedor; se realizó riego según las necesidades. El manejo de plagas se hizo de forma cultural (ajo, chile y pimienta como insecticidas naturales para pulgón y mosca blanca). La cosecha se realizó de acuerdo a la madurez de la hortaliza. Para el análisis se utilizaron verduras de 3 cosechas en diferentes jardines ecológicos. Las especies analizadas fueron acelga (*Beta vulgaris var. cicla*), betabel (*Beta vulgaris*), cilantro (*Coriandrum sativum*), espinaca (*Spinacia oleracea*), lechuga (*Lactuca sativa*), rábano (*Raphanus sativus*), zanahoria (*Daucus carota sativus*) y jitomate (*Solanum*). Estas hortalizas se analizaron entre septiembre de 2021 y febrero de 2022, en función de su madurez natural, y se obtuvieron todos los materiales vegetales según sus características sensoriales similares (aspecto, color y textura), incluidas las muestras comerciales. Todas las muestras se llevaron al laboratorio en un recipiente térmico. Los parámetros de color, textura y humedad se midieron en el producto fresco sin pelar el mismo día de compra o cosecha. Por otro lado, las partes comestibles de las verduras (20–50 g) se cortaron en trozos pequeños (<0.5 cm) y se liofilizaron (LABCONO WWR26671-581, Kansas City, EE. UU.) a -52 °C durante 48 a 72 horas. Las muestras liofilizadas se molieron (molino analítico A11

2.900.001, EE. UU.), se homogeneizaron y se tamizaron en partículas de menos de 500 µm. El polvo se almacenó en bolsa de plástico resellable hasta su análisis.

1. Propiedades físicas

1.1. Medición de color

El color se registró con un colorímetro Chroma meter CR-300 series (CE Minolta, Osaka, Japón). En las hojas se midió el color en tres puntos y en el dorso. En las hortalizas de remolacha, tomate, rábano y zanahoria se tomaron dos puntos externos y uno interno. Los parámetros CIE-Lab se determinaron mediante las coordenadas de luminosidad (L^*), a^* y b^* .

Los datos de L^* , a^* y b^* se convirtieron a diferencia de color (ΔE) usando la siguiente ecuación (Johnson & Fairchild, 2003)

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

$\Delta L^{*2} = (L^*_1 - L^*_2)^2$ donde L^*_1 es el vegetal comercial y L^*_2 es vegetal ecológico

$\Delta a^{*2} = (a^*_1 - a^*_2)^2$ donde a^*_1 es el vegetal comercial y a^*_2 es vegetal ecológico

$\Delta b^{*2} = (b^*_1 - b^*_2)^2$ donde b^*_1 es el vegetal comercial y b^*_2 es vegetal ecológico

1.2. Textura, humedad y cenizas

Los parámetros de textura para evaluar la turgencia en vegetales se determinaron utilizando un analizador de textura (Texture Analyzer, TA Plus, Stable Microsystems Co., Surrey, Reino Unido). Se utilizó una celda de corte Kramer con una sonda de cinco cuchillas para analizar vegetales de hojas, realizado en 10 repeticiones por muestra (colocando 20 g de vegetales picados en una celda de carga para una sonda Kramer con 5 cuchillas de corte). Para zanahoria, rábano, remolacha y tomate, se utilizó una sonda de punción P/2N para evaluar la resistencia a la rotura de la piel y la firmeza de la pulpa. La prueba se realizó a una distancia de 10 mm usando una velocidad de prueba de 2 mm/s de fuerza. La muestra fue analizada y reportada como fuerza máxima (N/g) (Medina et al., 2012; Tudela et al., 2013)

La humedad se determinó según el procedimiento AOAC 945.15 por desecación a 105 °C hasta peso constante y las cenizas se obtuvieron según el procedimiento AOAC 962.09.

2. Análisis de compuestos bioactivos

Para llevar a cabo el proceso de extracción se pesaron 250 mg de muestras liofilizadas y se extrajeron por agitación a temperatura ambiente con 50 mL de una mezcla de metanol-agua (50:50 v/v, 60 min, temperatura ambiente; agitación constante) y 50 mL de mezcla de acetona-agua (70:30 v/v, 60 min, temperatura ambiente; agitación constante) (Cacho et al., 2015; Viñas & Campillo, 2019). Luego de la centrifugación (15 min, 25 °C, 3000 rpm), los sobrenadantes se llevaron a un volumen total de hasta 25 mL, con una mezcla (1:1) de la solución de solventes y se utilizaron para determinar compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, antocianinas, betalainas y actividad antioxidante (ABTS•+, FRAP, DPPH y actividad quelante de iones ferrosos).

2.1. Compuestos fenólicos totales

El contenido fenólico total se estimó con base en el procedimiento de Folin-Ciocalteu (Muñoz-Bernal et al., 2017). Una alícuota de la solución de extracto (100 µL) se mezcló con 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (2.5 mL, previamente diluido con agua 1:10 v/v) y carbonato de sodio (75 g/L). Después de agregar 400 µL de carbonato de sodio (7.5%), las muestras se dejaron reposar durante 30 min a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 765 nm con un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU.). El ácido gálico se utilizó como patrón de referencia y los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso seco (mg GAE/100 g bs).

2.2. Ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico en el extracto vegetal se determinó según Dürüst et al., 1997. La muestra se diluyó 1:10 en una solución de ácido oxálico al 0,4%. Brevemente, se mezclaron 100 µL del extracto con 100 µL de tampón de acetato y 800 µL de 2,6-diclorofenolindofenol (DCPI). La absorbancia de la mezcla se midió a 520 nm en el lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), y se utilizó ácido ascórbico como patrón de referencia, y los resultados se expresaron en mg de ácido ascórbico por 100 g de peso seco (mg AA/100 g bs).

2.3. Antocianinas

Se empleó el método espectrofotométrico de pH diferencial mencionado en la literatura (Giustu & Wrolstad, 2001), para medir el contenido total de antocianinas (CTA) en los extractos. Se realizaron dos diluciones de la misma muestra en cloruro de potasio 0,025 M pH 1,0 y acetato de sodio 0,4 M pH 4,5. El pH se ajustó mediante la adición de HCl concentrado, respectivamente. La absorbancia de cada dilución se midió a 520 y 700 nm utilizando un Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU. El contenido total de antocianinas (*TAC*) se determinó de la siguiente manera:

$$Abs = (Abs_{510} - Abs_{700})pH_{1.0} - (Abs_{510} - Abs_{700})pH_{4.5}$$

$$TAC \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{Abs * Mw * DF * 1000}{\epsilon * 0.52}$$

Donde:

Abs: Absorbancia

Mw: Peso molecular del cianidin-3-O-glucoside (449.2 g/mol).

DF: Factor de dilución de la muestra.

ϵ : Coeficiente de extinción molar del cianidin-3-O-glucosido 26,900 L mol⁻¹ cm⁻¹

0.52 cm: Fondo de placa

2.4. β -caroteno, clorofilas y licopeno

Para la determinación de pigmentos, se homogenizaron 500 mg de la muestra liofilizada con 10 mL de una mezcla de acetona-hexano (2:3) durante 2 minutos hasta. Posteriormente las muestras fueron sonicadas (sonicador Bandelin HD3100 Sonopuls, Alemania) durante 3 minutos (5 ciclos: pulso 30 s, pausa 10 s). Los homogeneizados se centrifugaron (Eppendorf) a 5000 rpm durante 10 minutos a 20 °C. La muestra se congeló hasta su uso y una vez que se inició el experimento se mantuvo en un baño de agua con hielo para evitar el sobrecalentamiento.

Los pigmentos se determinaron según el método de Nagata & Yamashita, 1992. Se midió el espectro de absorbancia de cada sobrenadante y se leyeron los máximos de absorción a 453, 505, 645 y 663 nm (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU.). El β -caroteno y la clorofila (Chl a, Chl b) se calcularon a partir de las siguientes ecuaciones:

$$\beta - \text{caroteno} \left(\frac{mg}{100mL} \right) = (0.216 * A_{663}) - (1.22 * A_{645}) - (0.304 * A_{505}) + (0.452 * A_{453})$$

$$\text{Clorofila a} \left(\frac{mg}{100mL} \right) = (0.999 * A_{663}) - (0.0989 * A_{645})$$

$$\text{Clorofila b} \left(\frac{mg}{100mL} \right) = (0.328 * A_{663}) + (1.77 * A_{645})$$

2.5. Licopeno

El licopeno se determinó según el método de Nagata & Yamashita (1992) La determinación de licopeno se realizó únicamente en muestras de jitomate Se midió el espectro de absorbancia del

extracto de cada sobrenadante y se leyeron los máximos de absorción a 453, 505, 645, y 663 nm (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU.) El contenido de licopeno se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Licopeno} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{mL}} \right) = (0.0485 * A_{663}) - (0.204 * A_{645}) + (0.372 * A_{505}) - (0.0806 * A_{453})$$

3. Actividad antioxidante

3.1. ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio)

La capacidad antirradical se midió según Kuskoski et al. (2005). Se produjo el, el catión radical (ABTS^{•+}) se produjo haciendo reaccionar 7 mmol/L de solución madre de ABTS^{•+} con 2.45 mmol/L de persulfato de potasio en condiciones de oscuridad ya temperatura ambiente durante 16 h antes de su uso. La solución ABTS^{•+} se diluyó con agua desionizada hasta una absorbancia de 0.70 ± 0.10 a 754 nm. Luego, se agregaron 20 μL del extracto de la muestra a 980 μL de solución ABTS^{•+} diluida; las lecturas de absorbancia (754 nm) se tomaron en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior) después de la incubación durante 7 min a temperatura ambiente. La capacidad antioxidante se expresó como micromol de equivalentes de Trolox por 100 g de base seca ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g bs}$).

3.2. DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

La actividad eliminadora de radicales DPPH se midió usando una solución etanólica del radical DPPH estable. Una vez que se produjo la reacción con la muestra en condiciones de oscuridad durante 1 h, se registró la absorbancia de la mezcla en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU.) a 520 nm para determinar la concentración del resto. DPPH (1992) Los resultados se expresaron como micromoles de Trolox equivalente por 100 g bs ($\mu\text{mol TE}/100 \text{ g bs}$) de cada verdura.

3.3. FRAP (Poder antioxidante reductor férrico)

El método FRAP se determinó según Benzie y Strain (1999). Se utilizó solución FRAP con TPTZ, FeCl_3 y tampón de acetato (acetato de sodio anhidro y ácido acético glacial) y se midió la absorbancia a 593 nm utilizando un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU.). Los resultados se expresaron en micromoles de Fe (II) por 100 g bs ($\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ g bs}$) de cada una de las hortalizas.

3.4. Actividad quelante

La actividad quelante (CA) se determinó según lo descrito por Gulcin et al.,(2004) Los extractos de las muestra de vegetales se colocó en viales y se añadieron 50 µL de solución de cloruro férrico (II) (2 mM) y 450 µL de metanol. La solución se agitó y se dejó durante 5 minutos a temperatura ambiente antes de agregar 400 µL de ferrozina (5 mM). La mezcla se agitó y luego se dejó reposar durante 10 min a temperatura ambiente. La absorbancia se leyó a 562 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EE. UU.) usando EDTA (0,1 M) (Gulcin et al., 2004), y agente quelante y agua desionizada como control. La actividad quelante se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% CA = \frac{A0 - A1}{A0} * 100$$

A0: absorbancia de la muestra de control

A1 = absorbancia de la muestra

4. Análisis estadístico

Todos los datos se presentaron como media ± desviación estándar para al menos tres repeticiones en cada tratamiento. Para determinar diferencias entre muestras de hortalizas ecológicas y comerciales a niveles de significación estadística se realizó una prueba *t* de Student. En ambas pruebas estadísticas, el nivel de significación se fijó en $p=0.05$. La correlación entre los resultados de actividad antioxidante y compuestos bioactivos, así como entre los resultados de color y concentración de pigmentos, se realizó el análisis mediante la prueba de Spearman.

RESULTADOS

1. Propiedades físicas

1.1 Color

El color de los alimentos es un atributo importante y está asociado con la aceptabilidad y preferencia del consumidor (Benzie & Strain, 1999). Se realizaron mediciones de color en el anverso y reverso de las hortalizas de hoja (acelga, cilantro, espinaca y lechuga), así como en el pericarpio y pulpa de hortalizas enteras (remolacha, tomate, rábano y zanahoria). En el parámetro L^* , las hortalizas producidas ecológicamente fueron significativamente más brillantes que las hortalizas comerciales. Este comportamiento se presentó tanto en las hortalizas de hoja como en las evaluadas en pieza entera, a excepción de la muestra de tomate en la parte externa. En cuanto a las coordenadas a^* y b^* , todos los vegetales verdes se ubicaron en el cuadrante verde-amarillo, mientras que los vegetales rojos se ubicaron en el cuadrante rojo-verde, excepto el rábano en la parte interior.

Los vegetales verdes ecológicos mostraron una tonalidad más verde parámetro a^* (verde-rojo) en comparación con las muestras comerciales, con excepción de la lechuga, que tuvo valores similares en ambas muestras estudiadas, mientras que la espinaca fue similar entre las muestras de vegetales solo en la parte trasera. En cuanto a los vegetales rojos, las muestras ecológicas presentaron tendencia a ser rojas, ubicándose los valores en el cuadrante rojo-amarillo, estas muestras no

presentaron diferencias significativas, solo la zanahoria comercial en el valor externo de a^* fue significativamente mayor con tendencia a ser de color naranja.

Sobre el parámetro b^* (amarillo-azul), las hortalizas ecológicas como acelga, cilantro, espinaca y rábano presentaron mayor color amarillo que los productos comerciales ($p < 0.05$), con excepción de la lechuga en la hortaliza comercial.

El valor ΔE indica la percepción de la diferencia de color por parte del ojo humano y según Simunovic (2016), los valores superiores a 3 indican que las diferencias de color son perceptibles a simple vista, y el consumidor puede asociar esta diferencia de color con una mayor frescura. Los valores de ΔE en todos los puntos de las hortalizas evaluadas en este estudio fueron superiores a 3, variando de 4.67 a 23.49, sin contar la parte exterior del tomate y la parte interna del rábano, que tienen valores algo menos de 3 (2.79 y 2.8 respectivamente).

2.1 Textura, humedad y cenizas.

Los vegetales de producción ecológica mostraron valores menores indicando una mejor turgencia en comparación con los vegetales de producción comercial. Este es un indicador de frescura y calidad en los vegetales porque se mantiene cuando el agua se encuentra en los tejidos vegetales, en los compartimentos correctos como las vacuolas, el citosol y el espacio intermembrana (Kamga et al., 2013; Medina et al., 2012).

La mayoría de las muestras no presentaron diferencias significativas en la humedad, excepto la espinaca comercial y el rábano que presentaron mayor humedad, y el tomate ecológico que los comerciales y los valores fueron entre 87 y 97 %. Una práctica comercial habitual de los comerciantes es mantener los productos vegetales sumergidos en agua o con fumigaciones constantes para que las verduras mantengan su aspecto fresco. El agua en el vegetal es absorbida por las redes de hemicelulosa de las plantas, sin embargo, este contenido de agua se coloca en la superficie y no en los compartimentos celulares apropiados (Jayalath & Perera, 2021). Este tipo de manejo no se realizó en vegetales ecológicos ya que estos fueron cosechados e inmediatamente trasladados para su análisis físico. Debido a que este procesamiento genera hidratación de la red de hemicelulosa de la pared celular, aumentando su elasticidad, lo cual se verifica con la evaluación de la textura (Masarirambi et al., 2010).

Los valores de ceniza mostraron diferencias estadísticas significativas en cilantro, tomate y lechuga ecológicos en comparación con las hortalizas comerciales (0.02 a 0.22 mg/100 g). Según Butnariu et. al., (2014), los vegetales comestibles contienen minerales, principalmente K, Ca, Mg, P y Fe, y trazas de oligoelementos (Cr, Cu, I, F, Zn, Mg, Mo y Se). Se sabe que el contenido de minerales y oligoelementos de las plantas se ve afectado por el cultivo de la planta, el suelo y las condiciones climáticas, el uso de fertilizantes y el estado de madurez de la planta durante la temporada de crecimiento y después de la cosecha (Kapusta-duch et al., 2011).

2. Compuestos bioactivos

En general, todas las hortalizas producidas ecológicamente mostraron una mayor concentración de compuestos antioxidantes que las muestras comerciales, como se presenta a continuación.

2.1. Compuestos fenólicos totales (CFT)

Las hortalizas de producción ecológica presentaron una concentración de TPC entre 553 a 1429 mg EAG/100 g de base seca (bs), y las muestras con concentración alta fueron cilantro (1429.35 mg EAG/100 g bs) y rábano (1120.26 mg EAG/100 g bs), mientras que la zanahoria presentó la menor concentración (102.22 mg GAE/100 g bs). En concreto, la concentración de TPC en los productos vegetales ecológicos fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que, en los productos comerciales, excepto en los tomates (Tabla 1).

Table 1 Compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, β -caroteno clorofila *a* y *b* del huerto ecológico y comercial (mg/100 g bs)

Vegetales	Tipo	TPC (GAE)	Ácido ascórbico (AAE)	β -caroteno	Clorofila <i>a</i>	Clorofilal <i>b</i>
Acelga	Com	426.76 \pm 6.68	1219.37 \pm 7.27	50.68 \pm 0.27	509.24 \pm 8.21	1286.05 \pm 8.27
	Eco	485.25 \pm 2.38*	1276.51 \pm 7.27*	50.34 \pm 0.13	525.10 \pm 3.06*	1302.07 \pm 0.81*
Cilantro	Com	1151.11 \pm 27.74	1035.24 \pm 8.25	50.71 \pm 0.08	524.33 \pm 2.39	1233.34 \pm 1.94
	Eco	1429.35 \pm 10.61*	1070.16 \pm 7.21*	50.61 \pm 0.20	529.14 \pm 0.83*	1306.03 \pm 1.31*
Espinaca	Com	443.73 \pm 14.82	1208.41 \pm 40.50	49.21 \pm 0.29	508.18 \pm 3.03	1261.31 \pm 3.19
	Eco	592.50 \pm 5.46*	1222.71 \pm 90.02	49.47 \pm 0.14	508.48 \pm 6.92	1271.62 \pm 8.08
Lechuga	Com	205.93 \pm 3.67	1262.38 \pm 17.17	11.61 \pm 0.29	79.57 \pm 5.53	128.39 \pm 4.69
	Eco	754.23 \pm 44.41*	1310.00 \pm 12.60*	47.20 \pm 0.28*	508.64 \pm 3.29*	854.94 \pm 12.76*
Betabel	Com	277.99 \pm 8.29	1284.44 \pm 7.27*	1.44 \pm 0.04	4.47 \pm 0.36	11.08 \pm 0.86
	Eco	553.15 \pm 33.22*	1043.17 \pm 11.68	2.55 \pm 0.16*	44.13 \pm 0.27*	68.44 \pm 1.65*
Zanahoria	Com	88.18 \pm 7.77	1278.25 \pm 13.75	52.05 \pm 0.09	12.71 \pm 2.40	34.7 \pm 1.65
	Eco	102.22 \pm 3.96*	1310 \pm 26.51	53.23 \pm 0.04*	40.05 \pm 5.38*	140.16 \pm 5.11*
Jitomate	Com	873.59 \pm 2.56*	940.16 \pm 11.98	18.04 \pm 0.04	6.53 \pm 0.30	21.49 \pm 1.01
	Eco	506.89 \pm 1.31	1038.57 \pm 20.76*	19.33 \pm 0.16*	12.61 \pm 0.53*	13.39 \pm 2.71*
Rábano	Com	596.64 \pm 4.26	932.22 \pm 11.00	14.69 \pm 0.59	19.99 \pm 0.91	46.46 \pm 0.45
	Eco	1120.26 \pm 7.57*	1105.24 \pm 19.05*	16.71 \pm 0.19*	21.45 \pm 0.16	45.74 \pm 0.80

Com: comercial y Eco: ecológico. * significativamente diferente a $p < 0.05$. Las pruebas asumen varianzas iguales

2.2. Ácido ascórbico

Las hortalizas estudiadas tenían un contenido de ácido ascórbico entre 932 a 1310 mg AAE/100 g bs, sin embargo, las hortalizas ecológicas con mayor concentración fueron acelga, cilantro, tomate, lechuga y rábano. La lechuga de producción ecológica fue la hortaliza con mayor concentración de ácido ascórbico (1310 mg EAA/100 g bs), seguida de las acelgas con 1276.51 mg EAA/100 g bs (Tabla 1). La hortaliza con menor concentración de ácido ascórbico fue el tomate comercial con 940.16 mg EAA/100 g bs.

2.3. β -caroteno y clorofila

La concentración de β -caroteno en las muestras estudiadas estuvo entre 47 a 53 mg/100 g bs, excepto en remolacha, rábano y lechuga comercial que presentaron valores más bajos de este parámetro. Los resultados mostraron que la producción ecológica tuvo una mayor concentración de β -caroteno que las muestras comerciales, principalmente en zanahoria, rábano, lechuga, tomate y remolacha (Tabla 4). Los valores más bajos fueron en tomate, rábano y lechuga comercial (entre 11,61 a 19,33 mg/100 g bs) y remolacha (1,44 a 2,55 mg/100 g bs). Esta diferencia en la concentración de β -caroteno puede explicarse por los métodos de producción (ecológicos y comerciales) y la madurez de la planta al momento de la cosecha (Pintea et al., 2012), pero hay más evidencia científica de que el manejo y el almacenamiento postcosecha son factores determinantes en la concentración de estos compuestos (Barrett et al., 2010). Después de 3 o 4 días postcosecha, la pérdida de compuestos bioactivos se vuelve más rápida si las condiciones de humedad y temperatura en el almacenamiento no son las adecuadas (Walsh et al., 2015). Este podría ser el factor que esté influyendo decisivamente en los resultados del análisis realizado en este estudio.

La clorofila es un compuesto característico de los vegetales verdes y se puede encontrar en diferentes estructuras químicas que contribuyen a varios tonos de verde (Delgado-Vargas et al., 2000). El contenido de clorofilas en todas las muestras del tipo ecológico fue mayor que en las hortalizas comerciales. La mayor concentración de clorofila b (estructura química conduce a los colores amarillo verdoso) se observó en acelgas, cilantro, espinaca y lechuga (1306.03 a 1271.62 mg/100 g bs), por lo que la clorofila b (azul verdoso) fue menor en estos productos (508-524 mg/100 g bs) (Tabla 1).

2.4. Betalainas, licopeno y antocianinas

La presencia de antocianinas en rábanos, betalainas en remolacha y licopeno en tomates es característica y contribuye a los atributos de color de cada vegetal, y se asocia con su frescura (Fariborz Habibi, María Emma García-Pastor, Jenifer Puente-Moreno, Fernando Garrido-Auñón, 2022; Nemzer, n.d.). La concentración de antocianinas en hortalizas ecológicas fue de 604,39 mg en rábano, de betacianinas de 5114 mg y de betaxantinas de 5567 mg en remolacha, y de licopeno de 2927 mg en tomate considerando 100 g de masa seca mientras que las hortalizas comerciales tuvieron de 25 a 48 % menor concentración. En general, los productos comerciales pueden tener más manipulaciones durante el procesamiento, prácticas como lavar y remojar (Benítez-Estrada et al., 2020; Pintea et al., 2012). Por lo tanto, debido a la alta solubilidad de las antocianinas y las betalainas en agua, las pérdidas de estos compuestos podrían aumentar significativamente en el rábano y la remolacha durante el almacenamiento y la distribución comercial (Delgado-Vargas et al., 2000; Walsh et al., 2015). En particular, se ha observado que el licopeno es más alto en los tomates

que maduran en la planta en ambientes abiertos, mientras que, si se produce en un invernadero, la síntesis de licopeno podría ser mayor durante la postcosecha (Pinheiro et al., 2013).

3. Actividad antioxidante

La presencia de estos compuestos está relacionada con bioactividades antimicrobianas, anti proliferativas, antiinflamatorias y antioxidantes (Gandía-herrero et al., 2014; Rodríguez-amaya, 2019). Muchas condiciones posteriores a la cosecha, como las técnicas de cosecha, las condiciones de almacenamiento, la temperatura, la atmósfera y el pH, podrían influir en el estrés oxidativo (Li et al., 2012). Algunos síntomas del estrés oxidativo en los vegetales son la inhibición del desarrollo de los cloroplastos, el oscurecimiento del núcleo, el escaldado superficial, la alteración de la integridad de la membrana, la inactivación de las proteínas debido a la acción de las proteasas y la decoloración de la pigmentación (Solovchenko & Merzlyak, 2008). Por tanto, la presencia de compuestos bioactivos contribuye a la reducción del estado oxidativo y la calidad de los productos vegetales.

La tabla 2 muestra los resultados de actividad antioxidante y actividad quelante. Los valores de actividad antioxidante medidos como ABTS•+ estuvieron entre 4137.38 a 6565.53 µmol TE/100 g bs. Las muestras de tomate y zanahoria presentaron los valores más bajos (entre 23 a 120.12 µmol TE/100 g ps) en ecológico y comercial. verduras. En este estudio, esta metodología reportó altos valores de actividad antioxidante en comparación con DPPH, FRAP y actividad quelante en vegetales y puede explicarse por la afinidad con hidrofílicos (polifenoles y ácido ascórbico) y lipofílicos (β-caroteno, clorofila, y licopeno) compuestos. Se encontró una asociación moderada ($r^2=0.567^*$) entre la concentración de TPC y la actividad antioxidante medida por ABTS•+ en las hortalizas de la huerta ecológica. Estas características del método ABTS•+ permiten registrar la actividad antioxidante de varios compuestos en las muestras (Miller et al., 1993).

Table 2. Actividad antioxidante, ácido ascórbico y actividad quelante de vegetales de producción ecológica y comercial (100 g bs).

Vegetal	Tipo	ABTS•+ µmol TE	DPPH µmol TE	FRAP µmol Fe (II)	Actividad quelante %
Acelga	Com	3961.95 ± 342.37	55.44 ± 3.11	1056.35 ± 1.24	85.57± 1.87
	Eco	3737.05 ± 159.54	108.52 ± 2.00*	3446.17± 207.77*	90.19 ± 0.03*
Cilantro	Com	3596.63 ± 235.40	27.54 ± 1.07	1063.44 ± 374.00	79.34 ± 0.14
	Eco	3560.29 ± 226.21	73.00 ± 1.28*	1793.67 ± 15.48*	89.73 ± 0.78*
Espinaca	Com	2465.32 ± 181.42	0.12 ± 0.00	124.03 ± 3.23	81.50 ± 0.42
	Eco	3395.38 ± 52.81*	0.14 ± 0.01*	176.94 ± 3.15*	92.75 ± 0.13*
Lechuga	Com	4951 ± 194	6390.2 ± 268.7	263.49 ± 1.22	21:01 ± 0.74
	Eco	6623 ± 639*	7600.32 ± 97.28*	± 865.05 ± 8.77*	49.56 ± 0.13*

	Com	4362.63 ± 382.41	30.03 ± 2.78	197.49 ± 3.73	44.45 ± 1.00
Betabel	Eco	4231.84 ± 132.64	58.23 ± 1.93*	259.38 ± 6.12*	52.12 ± 0.09*
	Com	89 ± 6.01	----	62.28 ± 4.61	23.86 ± 0.30
Zanahoria	Eco	120.12 ± 8.88*	----	94.15 ± 3.49*	53.01 ± 4.50*
	Com	41.28 ± 1.62*	0.04 ± 0.0	37.99 ± 0.92	83.98 ± 0.15
Jitomate	Eco	23.29 ± 1.17	0.07 ± 0.0*	57.27 ± 1.15*	92.35 ± 0.09*
	Com	4137.38 ± 302.41	275 ± 14	135.79 ± 5.71	21.27 ± 0.85
Rábano	Eco	6565.53 ± 56.29*	1857 ± 101*	684.75 ± 13.79*	32.14 ± 2.56*

Com: comercial y Eco: ecológico. * significativamente diferente a $p < 0.05$. Las pruebas asumen varianzas iguales

Se puede observar que las hortalizas producidas en la huerta ecológica mostraron mayor actividad antioxidante que las muestras comerciales. La lechuga ecológica con 7600.32 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g bs}$ fue la que mejor capturó los radicales libres (Tabla 2). En cambio, en espinaca y tomate los valores fueron inferiores a 0.07 $\mu\text{mol TE}/100 \text{ g bs}$, mientras que en zanahoria no se detectó este ensayo. Esta actividad se correlacionó con las concentraciones de ácido ascórbico con significación estadística ($r^2=0.714^*$).

Al igual que en DPPH, en el análisis FRAP la actividad antioxidante registrada por todas las muestras de hortalizas ecológicas fue significativamente ($p < 0.05$) mayor que las muestras producidas comercialmente. Las muestras de acelga ecológica fueron las que reportaron mejor actividad antioxidante (3446.17 $\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ g bs}$) y las muestras que registraron menor actividad antioxidante fueron los tomates comerciales (37.99 $\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ g bs}$) (Tabla 2).

Todas las muestras de las hortalizas producidas en la huerta ecológica tienen mayor actividad que las muestras de producción comercial. La muestra de espinaca ecológica reportó el mayor porcentaje de quelación (92.35%) mientras que la lechuga comercial presentó el valor más bajo (21.01%). Este resultado podría explicarse debido a las fuertes propiedades de unión al hierro de los polifenoles, ya sea que la capacidad de quelación del hierro del catecol o los polifenoles desempeñe un papel clave en su actividad antioxidante y anti peroxidación lipídica al bloquear la reacción de Fenton (Bouaziz et al., 2015; Djenidi et al., 2020).

CONCLUSIONES

Las hortalizas de producción ecológica presentaron mejores características físicas en color (luminosidad e intensidad), las cuales fueron perceptibles por el ojo humano (ΔE). Además, resultaron más turgentes en comparación con las muestras comerciales. Además, los productos ecológicos tenían mayor cantidad de compuestos bioactivos (TPC, ácido ascórbico, β -carotenos, clorofilas, antocianinas, betalainas y licopeno) que los productos comerciales.

Sin embargo, es fundamental realizar más estudios para esclarecer si las diferencias encontradas a favor de los productos ecológicos se reflejan en la salud de las personas que los consumen y así promover el establecimiento de huertas orgánicas urbanas y periurbanas como estrategia de sustentabilidad. Para una alimentación saludable.

BIBLIOGRAFÍA

- Amaya-Castellanos, C., Shamah-Levy, T., Escalante-Izeta, E., Morales-Ruán, M. del C., Jiménez-Aguilar, A., Salazar-Coronel, A., Uribe-Carvajal, R., & Amaya-Castellanos, A. (2015). Development of an educational intervention to promote healthy eating and physical activity in Mexican school-age children. *Evaluation and Program Planning*, 52, 159–168. <https://doi.org/10.1016/j.evalprogplan.2015.05.002>
- Barrett, D. M., Beaulieu, J. C., & Shewfelt, R. (2010). Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(5), 369–389. <https://doi.org/10.1080/10408391003626322>
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–9. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299(1995), 15–27. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Bouaziz, A., Abu, M., Abdalla, S., Baghiani, A., & Charef, N. (2015). Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 19–28. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30165-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30165-9)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Browne, H. R. B. A. W., Harris, P. J. C., & Cadoret, K. (2001). Smallholder Farmers and Organic Certification : Accessing the EU Market from the Developing World. *Biological Agriculture*

and *Horticulture*, 19, 183–199. <https://doi.org/10.1080/01448765.2001.9754920>

- Butnariu, M., & Butu, A. (2014). *Chemical Composition of Vegetables and their Products* (Handbook o). Line. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-41609-5>
- Cacho, J. I., Campillo, N., Viñas, P., & Hernández-Córdoba, M. (2015). Determination of synthetic phenolic antioxidants in soft drinks by stir-bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 32(5), 665–673. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1011715>
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A. R., & Paredes-López, O. (2000). Natural Pigments : Carotenoids , Anthocyanins , and Betalains — Characteristics , Biosynthesis , Processing , and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173–289.
- Divya, P., Puthusseri, B., & Neelwarne, B. (2014). The effect of plant regulators on the concentration of carotenoids and phenolic compounds in foliage of coriander. *LWT - Food Science and Technology*, 56(1), 101–110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.012>
- Djenidi, H., Khennouf, S., & Bouaziz, A. (2020). Antioxidant activity and phenolic content of commonly consumed fruits and vegetables in Algeria. *Progress in Nutrition*, 22(March), 224–235. <https://doi.org/10.23751/pn.v22i1.7701>
- Dürüst, N., Sümengen, D., & Dürüst, Y. (1997). Ascorbic Acid and Element Contents of Foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085–2087. <https://doi.org/10.1021/jf9606159>
- Gandía-herrero, F., Escribano, J., & García-carmona, F. (2014). *Biological Activities of Plant Pigments Betalains*. August, 37–41. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.740103>
- Giustu, M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1–13.
- Habibi, F., García-Pastor, M. E., Puente-Moreno, J., Fernando Garrido-Auñón, M., & aría Serrano & Daniel Valero. (2022). Anthocyanin in blood oranges: a review on postharvest approaches for its enhancement and preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2098250>
- Huyskens-Keil, S., & Schreiner, M. (2006). Quality Dynamics and Quality Assurance of Fresh Fruits and Vegetables in Pre- and Postharvest. *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops*, 3, 401–449. https://doi.org/10.1007/1-4020-2534-3_15
- INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Pachuca de Soto Hidalgo. In *INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA*.
- Jayalath, M. M., & Perera, H. N. (2021). Mapping Post-Harvest Waste in Perishable Supply Chains through System Dynamics : A Sri Lankan Case Study. 16(3), 526–543.

- Johnson, G. M., & Fairchild, M. D. (2003). A Top Down Description of S-CIELAB and CIEDE2000. *Color Research and Application*, 28(6), 425–435. <https://doi.org/10.1002/col.10195>
- Kamga, R. T., Kouamé, C., Atangana, A. R., Chagomoka, T., & Ndango, R. (2013). Nutritional Evaluation of Five African Indigenous Vegetables. *Journal of Horticultural Research*, 21(1), 99–106. <https://doi.org/10.2478/johr-2013-0014>
- Kapusta-duch, J., Leszczy, T., Florkiewicz, A., & Filipiak-florkiewicz, A. (2011). *Ecology of Food and Nutrition Comparison of Calcium and Magnesium Contents in Cruciferous Vegetables Grown in Areas around Steelworks , on Organic Farms , and Those Available in Retail. October 2014*, 37–41. <https://doi.org/10.1080/03670244.2011.552373>
- Kuskoski, A. G., Asuero, A. M., Troncoso, J., Mancini-Filho, & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25, 726–732.
- Li, H., Tsao, R., & Deng, Z. (2012). *Factors affecting the antioxidant potential and health benefits of plant foods*. <https://doi.org/10.4141/CJPS2011-239>
- Luciana, N. G., Cassiano, O. da S., Lorena, G. S., Renata, M. T. D., Cristiane, B., & Erika, M. M. T. (2017). Nutritional composition of vegetables grown in organic and conventional cultivation systems in Uberlândia, MG. *African Journal of Agricultural Research*, 12(21), 1848–1851. <https://doi.org/10.5897/ajar2016.11886>
- Masarirambi, M. T., Mavuso, V., Songwe, V. D., & Nkambule, T. P. (2010). *Indigenous post-harvest handling and processing of traditional vegetables in Swaziland : A review*. 5(24), 3333–3341. <https://doi.org/10.5897/AJAR10.685>
- Medina, M. S., Tudela, J. A., Marín, A., Allende, A., & Gil, M. I. (2012). Short postharvest storage under low relative humidity improves quality and shelf life of minimally processed baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 67, 1–9. <https://doi.org/doi:10.1016/j.postharvbio.2011.12.002>
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84(4), 407–412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). Nuevo Acercamiento a La Interacción Del Reactivo De Folin-Ciocalteu Con Azúcares Durante La Cuantificación De Polifenoles Totales. *Tip*, 20(2), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Nagata, M., & Yamashita, I. (1992). Simple method simultaneous determination of Chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 39(10), 925–928.
- Olesen, J. E., & Bindi, M. (2002). Consequences of climate change for European agricultural productivity, land use and policy. *European Journal of Agronomy*, 16(4), 239–262. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(02\)00004-7](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(02)00004-7)

- Pintea, A., Andrei, S., Bunea, C., Pop, R., & Bele, C. (2012). *Carotenoid and fatty acid profiles of bilberries and cultivated blueberries from Romania*. *Food Chemistry*, 135, 935–939. <https://doi.org/10.2478/s11696-012-0162-2>
- Righetti, T., Cavaleiro, T., Alcoforado, R. D. O., Soares, V., Silva, D. A., Paulo, P., Coimbra, S., De, S., Elisa, D., Cavalcanti, C., Jurelevicius, D. D. A., Castello, É., & Andrade, B. De. (2021). *The Impact of Organic Fertilizer Produced with Vegetable Residues in Lettuce (Lactuca sativa L.) Cultivation and Antioxidant Activity*. *Journal of Food Science*, 92(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/1365-3113.15444>
- Rodriguez-amaya, D. B. (2019). *Natural Food Pigments and Colorants*. *Journal of Food Science*, 90(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/1365-3113.14444>
- Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. *Dyes and Pigments*, 98(3), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011>
- Schifferstein, H. N. J., Wehrle, T., & Carbon, C. (2018). Consumer expectations for vegetables with typical and atypical colors: The case of carrots. *Food Quality and Preference*, 65, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.10.002>
- Simunovic, M. P. (2016). Acquired color vision deficiency. *Survey of Ophthalmology*, 61(2), 132–155. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2015.11.004>
- Solovchenko, A. E., & Merzlyak, M. N. (2008). *Screening of Visible and UV Radiation as a Photoprotective Mechanism in Plants*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biological Sciences*, 91(2), 719–737. <https://doi.org/10.1134/S1021443708060010>
- Tena, N., & Mart, J. (2020). State of the Art of Anthocyanins : Antioxidant Activity , Sources , Bioavailability , and Therapeutic Effect in Human Health. *Antioxidants*, 9, 2–28. <https://doi.org/10.3390/antiox9050451>
- Thomsen, M. G., Riley, H., Borge, G. I. A., Lea, P., Gunnar, B., & Division, A. C. (2018). Effects of soil type and fertilization on yield , chemical parameters , sensory quality and consumer preference of swede (Brassica napus L . ssp . rapifera). *European Journal of Horticultural Science*, <https://doi.org/10.17660/eJHS.2017/82.6.4>
- Tudela, J. A., Marín, A., Garrido, Y., Cantwell, M., Medina-Martínez, M. S., & Gil, M. I. (2013). Off-odour development in modified atmosphere packaged baby spinach is an unresolved problem. *Postharvest Biology and Technology*, 75, 75–85. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.08.006>
- Viñas, P., & Campillo, N. (2019). Gas Chromatography: Mass Spectrometry Analysis of Polyphenols in Foods. In *Polyphenols in Plants*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00016-5>
- Walsh, R., Bartlett, H., & Eperjesi, F. (2015). Variation in carotenoid content of kale and other vegetables : a review of pre and post-harvest effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03691>

Willer, H., Yussefi-Menzler, M., & Sorensen, N. (2008). The world of organic agriculture: Statistics and emerging trends 2008. In *The World of Organic Agriculture: Statistics and Emerging Trends 2008*. <https://doi.org/10.4324/9781849775991>

INTRODUCCIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS EN LA MICROALGA *Neochloris oleoabundans* MEDIANTE LA APLICACIÓN DE EXTRACTOS CELULARES

Daniela Cornejo-Corona¹, Nancy Edith Lozoya-Pérez², Domancar Orona-Tamayo², Elizabeth Quintana-Rodríguez²

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, ²Biotecnología Ambiental- CIATEC, A.C., León, Guanajuato, México.

cor.co.dany@comunidad.unam.mx *equintana@ciatec.mx

RESUMEN

Neochloris oleoabundans es una microalga verde perteneciente al filo *Chlorophyta*. *N. oleoabundans* tiene una alta tolerancia a condiciones de estrés de tipo seco, siendo sequía y salinidad las más notorias. Se conoce poco acerca del metabolismo de la microalga *Neochloris oleoabundans*, sin embargo, recientemente se ha estudiado su tasa de crecimiento y las condiciones por las cuales esta microalga acumula lípidos intercelulares, particularmente triacilgliceroles. *N. oleoabundans* es una de las microalgas con mayor relevancia en la industria debido a su alta producción de lípidos intercelulares, siendo un área de oportunidad en el área de biocombustibles. El entendimiento de la biosíntesis de lípidos en la microalga *Neochloris oleoabundans* es importante para que pueda establecerse la relación entre los factores de estrés y la acumulación de lípidos, este proceso es bien conocido tratándose de variaciones en los nutrientes o en la cantidad de luz, sin embargo, las respuestas a factores de daño como DAMPs son desconocidos. Los DAMPs son moléculas de señalización al daño, las cuales son liberadas de células cercanas que sufrieron algún daño. Algunos ejemplos de estas moléculas son ADN, ARN, ATP, proteínas y carbohidratos. Al agregar extracto celular a cultivos de *N. oleoabundans* se exponen las células a DAMPs intercelulares. Se ha estudiado la respuesta a extractos celulares en plantas, sin embargo, las respuestas a DAMPs son desconocidos en microalgas. En este trabajo, se agregaron extractos celulares en cultivos de *N. oleoabundans* y se analizó su efecto en la producción de lípidos y polifenoles. Al agregar extractos celulares, observamos un incremento en la producción de lípidos y polifenoles el cual estuvo relacionado con la cantidad del extracto celular adicionado al cultivo. Estos resultados muestran; tal como se ha observado en plantas, que los extractos celulares inducen la acumulación de metabolitos de interés. La aplicación de extractos celulares presenta un enorme potencial para su uso en cultivos de microalgas, particularmente en *N. oleoabundans*, la cual ya destaca como microalga de interés biotecnológico en la producción de biodiésel.

INTRODUCCIÓN

Neochloris oleoabundans, es una microalga verde unicelular oleaginosa perteneciente al filo *Chlorophyta*. A lo largo de los años, esta microalga ha sido considerada una de las microalgas industriales candidatas más prometedoras, debido a su alta tasa de crecimiento y composición de biomasa (Safi *et al.*, 2021). Las microalgas verdes, como *N. oleoabundans*, se reconocen por su pared celular; una estructura dinámica y rígida, que determina la viabilidad celular en una amplia gama de entornos, protege a la célula del estrés biótico y abiótico y proporciona plasticidad, lo que permite que las células se expandan y adopten diferentes formas (Rashidi *et al.*, 2019). La rigidez en la membrana celular le confiere beneficios a la célula, entre ellos resistir los movimientos bruscos, evitando el deterioro de esta. Al dañarse las células, se liberan distintos componentes dentro de la membrana, citosol, organelos, ADN y RNA. Todas estas moléculas liberadas de una célula dañada son conocidos como "Patrones Moleculares Asociados a Daño" (DAMPs) (Choi and Klessig, 2016).

Los DAMPs se liberan de las células dañadas o moribundas debido a heridas, isquemia, apoptosis o necrosis inducida por infecciones. Se ha probado la aplicación de extractos celulares en plantas, y se ha demostrado que la aplicación de estos provocó un aumento a la resistencia contra plagas y enfermedades (Quintana-Rodriguez et al., 2018). En microalgas no se ha probado el efecto de extractos celulares sobre la producción de metabolitos de interés. Por lo que en este proyecto se probaron extractos celulares para evaluar la acumulación de lípidos y polifenoles en la microalga *N. oleoabundans*.

TEORÍA

N. oleoabundans responde a extractos celulares debido a los DAMPs contenidos en este con el aumento en la producción de lípidos y polifenoles. Además, la respuesta es proporcional a la cantidad de extracto utilizada.

PARTE EXPERIMENTAL

Crecimiento de cultivo de *Neochloris Oleoabundans*

Se crecieron las microalgas en fotobiorreactor con periodo de luz de 12 h, temperatura ambiente entre 25°C y 27°C, usando como medio de crecimiento Medio Basal Bold (M.M.B) 1x. Se monitoreo el crecimiento usando espectrofotometría a una densidad de onda a 540nm.

Obtención de extracto celular

A partir de un cultivo en fase exponencial se centrifugo a 5500rpm hasta obtener la biomasa en forma de pastilla. Y se añadieron 5ml de P.B.S 1x para posteriormente realizar conteo celular, obteniendo el número de células por mililitro. Una vez obtenida el número de células por mililitro, se aplicó sonicación en amplitud 20% y pulso 10% durante 8 minutos sobre una base de hielo con la finalidad de dañar las células y liberar su contenido (mezcla de DAMPs).

Interacción a extracto celular

Se utilizaron cultivos de *N. oleoabundans* en inicio de fase exponencial. Se realizó un conteo celular para determinar la cantidad de células por mililitro, para hacer la relación de la cantidad de extracto celular con la cantidad de células por mililitro en el cultivo y determinar la cantidad de extracto celular a inocular. Siendo los tratamientos: control, 0.25x y 0.50x del total células en el cultivo en forma de extracto celular.

Extracción y cuantificación de polifenoles por el método Folín Ciocalteu

Se tomaron 25ml de cultivo post tratamiento, se centrifugan y se lavó la pastilla celular con P.B.S 1x, posteriormente se decantó el líquido y se liofilizaron las pastillas de biomasa. Se adicionaron 50µL de metanol al 70% a las pastillas liofilizadas y se dejó en agitación protegidas de la luz por lo menos 12 horas. Posterior a esto se centrifugo a 12000rpm y 4°C, y se pasó el sobrenadante a otro tubo. Se colocaron en la microplaca las muestras por triplicado con los siguientes reactivos y el orden: 237 µL de agua desionizada, 45 µL de Na₂CO₃ al 15%, 3 µL de muestra y 15 µL de Folín al 10%. Se dejó incubar por 5 minutos en oscuridad, se colocó metanol al 70% como blanco (por triplicado), se colocó en espectrofotómetro y se midió a 760nm.

Extracción y cuantificación de lípidos por gravimetría

Para la extracción de lípidos totales se utilizó el método de (Bligh and Dyer, 1959) adaptado a microalgas propuesto por (Vega and Lobina, 2007). Primero se agregó 1ml de cloroformo:metanol (1:2). Se sonicó por 15 minutos en intervalos de 5 minutos sobre una base de hielo. Posterior a esto se dejó incubando, protegiendo los tubos de la luz al menos 24 horas. Pasado el tiempo de incubación se centrifugó a 5000rpm por 20min a 5°C, se recuperó el extracto con una pipeta y se pasó a un tubo nuevo. Se agregaron 500µl de agua desionizada y se agitó con vortex. Se centrifugo a 5000rpm a 5°C por 10min y se separó la fase inferior introduciendo la pipeta hasta el fondo, colocándola en un tubo nuevo, una vez separada se agregó 1ml de cloroformo. En campana de extracción se dejó secar la fase cloroformo-lípido. Una vez secos los lípidos, se pesaron y se siguió el método gravimétrico en el cual se pesa el tubo vacío, la muestra liofilizada y el tubo con los lípidos ya secos. Para obtener la cantidad de lípidos con respecto al peso seco, se multiplicó la cantidad de lípidos totales y se dividió entre el peso seco de la respectiva muestra.

RESULTADOS

Se realizaron nueve réplicas del protocolo de extracción de compuestos fenólicos, a partir de las interacciones con extracto celular. Recolectando la biomasa celular de cultivos inoculados con extractos celulares. Y a partir de las mediciones con las distintas replicas se graficaron y se llevó a cabo un análisis estadístico TWO-WAY-ANOVA en GRAPHPAD PRISM 7 con las variables tiempo y concentración de extracto celular para examinar el efecto en el contenido de polifenoles de los distintos tratamientos con extractos celulares: control, 0.25x y 0.50x, en los distintos tiempos de muestreo: a las 0, 24 y 48 horas posteriores al aplicar el tratamiento. Mostrando una diferencia significativa en la cantidad de fenoles con 0.50x de extracto celular entre las 0 y 48 horas ($p < 0.05$), mientras que no se muestra efecto significativo entre los tratamientos control y 0.25x con respecto al tiempo ($p > 0.05$). Graficando el promedio de las muestras, además, se muestra la desviación estándar entre las réplicas $n = 9$.

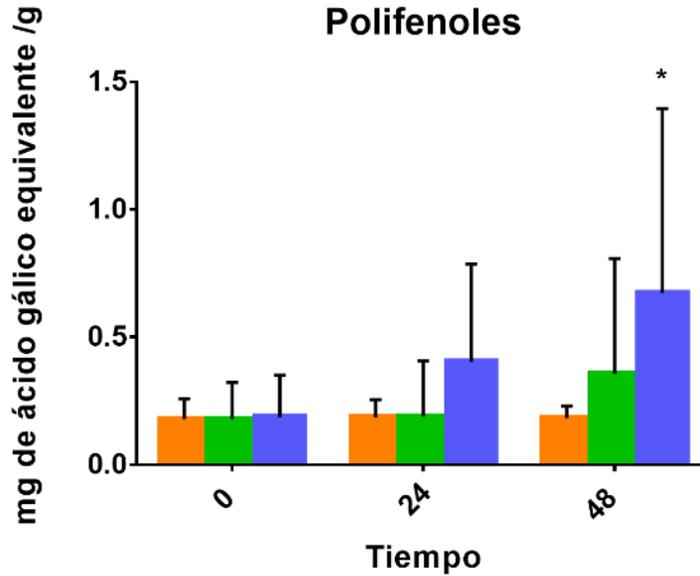


Fig 1 Producción de polifenoles de *N. oleoabundans* posteriores a los tratamientos con extracto celular (Control, 0.25x y 0.50x) a las 0, 24 y 48 horas post tratamiento. (n = 9, media \pm SD, Two-way ANOVA, Tukey P < 0.05)

Se realizaron nueve réplicas del protocolo de extracción de lípidos, a partir de las interacciones con extracto celular. Una vez obtenido los lípidos totales en mg/g, con respecto al peso seco. Se graficaron las réplicas y se llevó a cabo un análisis estadístico TWO-WAY-ANOVA en GRAPHPAD PRISM 7 con las variables tiempo y concentración de extracto celular para examinar el efecto en el contenido de lípidos de los distintos tratamientos con extractos celulares: control, 0.25x y 0.50x, en los distintos tiempos de muestreo: a las 0, 24 y 48 horas posteriores al aplicar el tratamiento. Mostrando una diferencia significativa en la cantidad de lípidos totales con 0.50x de extracto celular entre las 0 y 48 horas ($p < 0.05$), mientras que no se muestra efecto significativo entre los tratamientos control y 0.25x con respecto al tiempo ($p > 0.05$). Graficando el promedio de las muestras, además, se muestra la desviación estándar entre las réplicas n = 9.

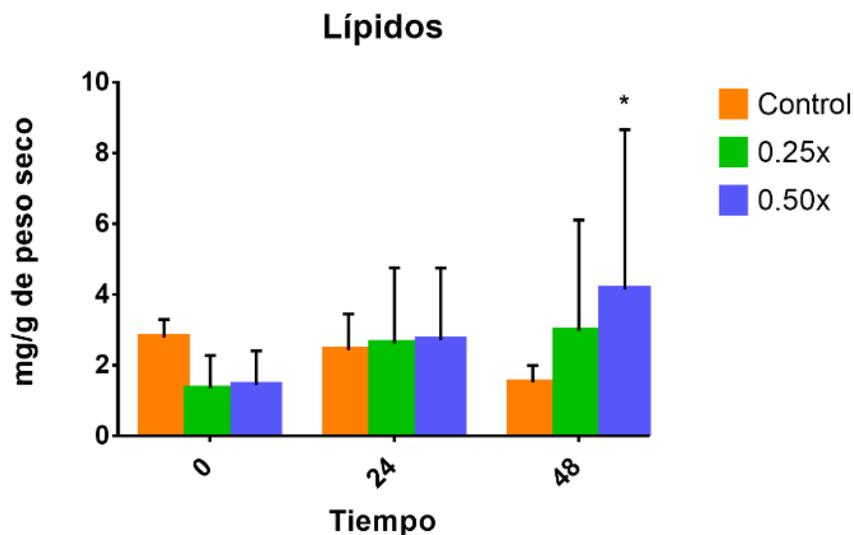


Fig. 2 Producción de lípidos en *N. oleoabundans* posterior a los tratamientos con extracto celular (Control, 0.25x y 0.50x) a las 0, 24 y 48 horas post tratamiento. (n = 10, media \pm SD, Two-way ANOVA, Tukey $P < 0.05$)

CONCLUSIONES

En microalgas hay muy poca información con respecto al uso de DAMPs específicos y de extractos celulares; por lo que los resultados de este estudio presentan un potencial para su uso como inductores de biomoléculas en las microalgas. Los compuestos polifenoles son antioxidantes, los cuales la célula secreta al estar en estrés, contrarrestando la oxidación celular a partir de especies reactivas de oxígeno. El aumento en la concentración de polifenoles a medida que la concentración de extracto celular aumenta indica una respuesta de la célula al estrés oxidativo. En el caso de los lípidos, también se ve un incremento en la producción, a mayor concentración de extracto celular inoculado. Siendo estadísticamente significativa ($p < 0.05$) la diferencia en la cantidad de lípidos producidos en el tratamiento 0.50x a las 48 horas de la inoculación. Queda demostrado que la microalga responde a los extractos celulares aumentando su producción de lípidos y polifenoles. La aplicación de extractos celulares presenta un enorme potencial para su uso en cultivos de microalgas, particularmente en *N. oleoabundans*, la cual destaca como microalga de interés biotecnológico por su alta producción de lípidos con potencial uso para la producción de biodiesel.

BIBLIOGRAFÍA

Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, 37, 911–917.

Choi, H.W. and Klessig, D.F. (2016) DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity. *BMC Plant Biology* 2016 16:1, 16, 1–10.

Duran-Flores, D. and Heil, M. (2018) Extracellular self-DNA as a damage-associated molecular pattern (DAMP) that triggers self-specific immunity induction in plants. *Brain Behav Immun*, 72, 78–88.

Palomba, E., Chiaiese, P., Termolino, P., Paparo, R., Filippone, E., Mazzoleni, S. and Chiusano, M.L. (2022) Effects of Extracellular Self- and Nonself-DNA on the Freshwater Microalga *Chlamydomonas reinhardtii* and on the Marine Microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Plants* 2022, Vol. 11, Page 1436, 11, 1436.

Quintana-Rodriguez, E., Duran-Flores, D., Heil, M. and Camacho-Coronel, X. (2018) Damage-associated molecular patterns (DAMPs) as future plant vaccines that protect crops from pests. *Sci Hortic*, 237, 207–220.

Rashidi, B., Dechesne, A., Rydahl, M.G., Jørgensen, B. and Trindade, L.M. (2019) *Neochloris oleoabundans* cell walls have an altered composition when cultivated under different growing conditions. *Algal Res*, 40, 101482.

Rashidi, B. and Trindade, L.M. (2018) Detailed biochemical and morphologic characteristics of the green microalga *Neochloris oleoabundans* cell wall. *Algal Res*, 35, 152–159.

Safi, C., Pollio, A. and Olivieri, G. (2021) *Neochloris oleoabundans* from nature to industry: a comprehensive review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 2021 20:4, 20, 943–958.

Vega, B.O.A. and Lobina, D.V. (2007) MÉTODOS Y HERRAMIENTAS ANALÍTICAS EN LA EVALUACIÓN DE LA BIOMASA MICROALGAL.

EFFECTO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LA OVULACIÓN DE HÁMSTER

Aleksandra Alarcón Evtoukh¹, Bárbara Vargas Miranda¹, Alfredo Trejo Córdova¹,

Raymundo Rangel Santos², María del Carmen Navarro Maldonado¹ y Demetrio Ambríz García¹

¹Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, ²Universidad Autónoma de Chapingo.

deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

Diferentes fluidos corporales han sido utilizados para eficientizar algunos procesos fisiológicos y reproductivos tanto *in vivo* como *in vitro*. El plasma rico en plaquetas (PRP) ha servido para mejorar procesos de regeneración de tejidos periodontales en procedimientos quirúrgicos, pero también en estimular la ovulación en varias especies de mamíferos, en su aplicación directa al ovario, desconociéndose su efecto por aplicación próxima a dicha gónada. El PRP se obtiene a partir de un centrifugado inicial, para separar células sanguíneas y grandes proteínas, y otro centrifugado posterior, para concentrar las plaquetas y factores de interés. Con la finalidad de conocer el efecto del PRP aplicado en la bursa ovárica del hámster sobre la tasa de ovulación, es que se realizó el presente trabajo. Se utilizaron 7 hembras hámster Sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) de 3 meses de edad y peso promedio de 147.5gr con ciclos estrales regulares (cada 4 días). Fueron sedadas (Ketamina-Xilacina) y por el flanco exteriorizado ovario y oviducto. En la bursa ovárica se inyectó 2μL de PRP (obtenido por 2 centrifugaciones de 10,000rpm/10 minutos, cada una) o 2μL de agua a la bursa contralateral de manera aleatoria. El día del estro, se contaron los ovocitos y cuerpo lúteo, encontrando que con el PRP se obtuvieron más ovulaciones que con el agua (8 vs 4.1, $p < 0.003$). A pesar de que estos datos revelan que con el PRP se obtuvieron más ovocitos, éstos, junto con los contralaterales, no superaron la tasa ovulatoria normal esperada de la especie (10-12 ovocitos), por lo que se sugiere aumentar el volumen de PRP inyectado.

INTRODUCCIÓN

El cuerpo de los mamíferos, tiene mecanismos propios de defensa ubicados en distintos niveles y compartimentos corporales. Algunos de ellos actúan como barrera, otros a través de sustancias enzimáticas o adherentes, para inactivación de patógenos, lo que resulta muy importante para la sobrevivencia. En el interior del organismo hay un complejo mecanismo de defensa denominado el sistema inmune, el cual tiene acciones de defensa celular y no celular. Además de estos elementos existen otros comúnmente denominados “factores” de compleja composición química pero con acciones muy dirigidas hacia la protección, por ejemplo factores angiogénicos y de crecimiento epidermal, relacionados con actividades naturales de conservación de la Salud, a través de la regeneración de diferentes tejidos.

Por otro lado, luego del ovocito, la célula plasmática o megacariocito, es la más grande del cuerpo, y a diferencia del anterior que circula por conductos de lumen considerable (oviducto y útero), la plasmática se enfrenta a un intrincado y conflictivo paso por el lumen de vasos sanguíneos, que, en momentos, por su diminuto tamaño, pronto ocasionan que ésta se rompa dando lugar a miles de pequeños fragmentos (alrededor de 30,000 por célula) denominadas plaquetas. Al concentrar en una fracción del plasma, dichas plaquetas, obtenemos el denominado: Plasma Rico en Plaquetas (PRP), el cual ha sido utilizado en diferentes áreas de la Salud humana y Animal, pero también en la asistencia al aumento de la eficiencia de procesos reproductivos. Su obtención (autólogo o heterólogo, dependiendo de su origen) y procesamiento (por centrifugación), permite en muy poco tiempo, tener un recurso importante enriquecido de plaquetas, pero además de factores tales como

PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\alpha\beta$, PDGF $\beta\beta$, TGF- β_1 , TGF- β_2 , VEGF y EGF, así como citocinas, que han sido utilizadas ampliamente, con éxito, en la pronta reparación de diferentes tejidos, como músculos y ligamentos. Se ha explorado también su uso en la actividad ovárica a través de su aplicación directa a la gónada en mujeres, vacas, y recientemente en borregas, con buenos resultados para la estimulación de la ovulación, sin embargo aún falta por definir varios pormenores en su obtención, procesamiento y aplicación proximal no invasiva, de ahí la necesidad de estandarizarlo con la utilización de modelos animales de laboratorio

TEORÍA

La utilización del PRP se señala que data desde 1970, en áreas médicas tales como la dermatología, odontología, cirugía plásticas, y otras. Principalmente el que se recomienda es de origen autólogo, es decir, de cada paciente que lo va a recibir, se obtiene de él mismo, esta sustancia que es rica en factores de crecimiento. Entre los más destacados figuran el Factor de Crecimiento Endotelial (VEGF), Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas (PDGF), Factor de Crecimiento Transformador Beta (TGF- β) y Factor de Crecimiento Insulínico tipo 1 y Tipo 2 (IGF-1 y IGF-2). Estos factores en su conjunto son importantes en procesos de diferenciación celular, migración, angiogénesis, procesos regenerativos e inflamatorios (Nicolau, 2021). Las plaquetas durante un daño al cuerpo, se estimulan a agregarse y a degranular, liberando factores de crecimiento, citoquinas y factores hemostáticos, en el espacio o intersticio donde se encuentren. Esta degranulación permite la liberación de serotonina y de histamina con la consecuente aumento de la permeabilidad capilar para facilitar la llega de células inflamatorias tales como leucocitos, macrófagos y neutrófilos, los que en conjunto fagocitaran algún material derivado de la lisis presentada (Marques et al., 2014), además permite el establecimiento de los fibroblastos y la producción de colágeno, elastina y otros elementos de la matriz extracelular para complementar el proceso regenerativo.

La centrifugación de la sangre extravasada o extraída, permite a través de un proceso sencillo de centrifugación, aumentar la concentración de tres a cinco veces del nivel basal de plaquetas (Nicolau, 2021). Por otro lado, dado que el PRP es preferentemente, una contribución autóloga, los riesgos de salud son reducidos (Marques et al., 2015) y sus beneficios múltiples. Los efectos en reparación de hueso, músculo, tendones y ligamentos en diferentes especies son evidentes (Marques et al., 2015) y por tener altas concentraciones de factores antiinflamatorios son utilizados exitosamente para la endometritis en yeguas (Verdugo y Melo, 2022), donde además se ha estudiado que durante la inseminación natural, se ejerce un importante efecto inflamatorio del tracto genital de la yegua, con lo que es frecuente la inhabilitación reproductiva por esta causa. Por otro lado, se ha utilizado el PRP aplicado directamente en ovarios de diferentes mamíferos domésticos y de investigación, pero en especial en humanos, con la finalidad de inducir la reactivación funcional y se han logrado gestaciones incluso en mujeres de edad avanzada (Nicolau, 2021) o con problemas clínicos severos de infertilidad. Al parecer esto obedece al potencial angiogénico (VEGF), a la activación celular y al posible rescate de ovogonias (Lloyd et al., 2021) por lo que se ha considerado importante dentro de la medicina reproductiva actual. También es relevante mencionar que hoy día son más frecuentes los casos de cáncer en mujeres de edad juvenil, donde hay necesidad de aplicar distintos tratamientos antineoplásicos que pueden afectar de manera colateral a órganos de actividad de diferenciación constante como es el caso de los ovarios y que a través de la posterior aplicación del PRP ha sido posible recuperar la función reproductiva, toda vez que la paciente haya vencido su cáncer. Al respecto, existen estudios de laboratorio en ratas, donde se les ha administrado tratamientos anti cáncer, con la finalidad de lesionar la actividad ovárica. Posteriormente se ha administrado PRP por vía intraperitoneal (100-200 μ L) y se ha monitoreado la actividad ovárica a

través de la producción de estradiol y progesterona, concluyendo que el PRP estimula al ovario a la reactivación de sus funciones normales (Shamrai et al., 2022).

En el presente estudio la aplicación del PRP durante un ciclo previo, permitió obtener el doble de ovocitos que el control, pero entre ambos no se logró superar la tasa ovulatoria normal, sin embargo si se aplicara a ambas bursas el PRP y la respuesta fuera la aquí reportada, se lograrían 16 ovocitos, lo que representa un 30% mayor. Por ello, es conveniente ensayar dosis mayores de PRP intrabursal o incluso explorar otras vías de administración no invasivas y evaluar su efecto en la actividad ovárica

MÉTODO

Animales: 7 hembras hámster Sirio dorado de 3 meses de edad con ciclos estrales regulares (estros cada 4 días), fueron mantenidas en una caja de acrílico, con cama sanitaria en condiciones estándar de bioterio (23°C), con agua y alimento (nutricubos Abene) a libertad y un fotoperiodo de 14 horas luz/10 hr oscuridad.

PRP. Se obtuvo 1 ml de sangre por punción intracardiaca en una hembra adicional, y se colocó en tubo Eppendorf con EDTA (2mg/ml). La muestra sanguínea se centrifugó a 10,000rpm x10 minutos. Se colocó el sobrenadante, en un segundo tubo y posteriormente se centrifugó en las condiciones ya descritas. De éste se utilizó el sedimento donde hubo mayor concentración de plaquetas. El PRP se utilizó el día de obtención o al día siguiente, manteniéndolo en congelación.

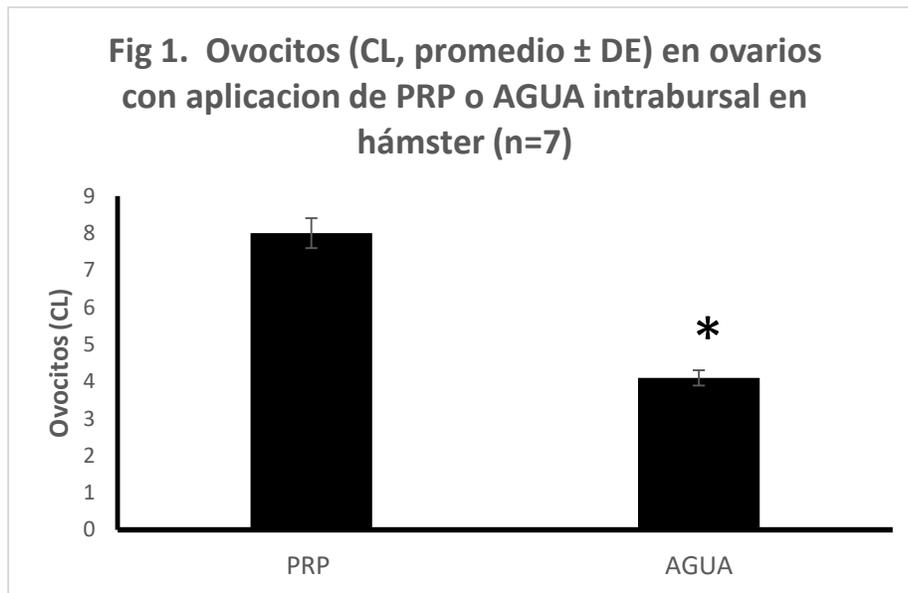
PRP intrabursal. En etapa de ciclo estral indistinta de las hembras, se les aplicó el sedante intramuscular a razón de 0.05ml de Ketamina combinado con 0.1ml Xilacina por cada 100gr de peso corporal. Los animales fueron rasurados en los flancos y se colocaron en decúbito dorsal, se incidió a un lado de la línea media sobre piel, tejido subcutáneo, músculo y peritoneo. Se colocó un campo de algodón, sobre la incisión y se exteriorizó el ovario y el oviducto. Se localizó la bursa ovárica y se inyectó sobre una zona de su pared no vascularizada, con una aguja 27G y jeringa Hamilton, 10 µl de PRP. Se procedió de manera similar a lo ya descrito para localizar la bursa contralateral e inyectarle agua. Se hidrataron los órganos con PBS y regresaron a cavidad abdominal. Se suturó peritoneo y músculo, posteriormente piel. Se desinfectó la herida y se dejaron las hembras en el bioterio para recuperación. Al siguiente estro, las hembras fueron sacrificadas por dislocación cervical.

Evaluación. Se extrajeron ovarios y oviductos. En los ovarios fueron localizados y contados bajo microscopio estereoscópico, el número de Cuerpos Lúteos (CL) y los oviductos fueron perfundidos con 200 µl de PBS en caja de 4 pozos y contado el número de ovocitos bajo el microscopio invertido a 20X.

Estadístico. Se hicieron pruebas t-Student para datos pareados por los Cuerpos Lúteos de cada ovario y ovocitos oviductales según tratamiento, considerando diferencias significativas de $p < 0.05$

RESULTADOS

Todas las hembras tuvieron el estro en el tiempo correspondiente, sin que la cirugía o la inyección intrabursal interfirieran con el curso normal del ciclo estral. El posoperatorio se llevó de manera satisfactoria sin presentarse retiro de puntos de las heridas o contaminación. Tampoco se detectó alguna conducta antisocial entre las hembras. En relación a la aplicación intrabursal de PRP provocó aumento en la tasa ovulatoria (con el correspondiente aumento del número de CL), con diferencia estadísticamente significativa, con respecto a la aplicación del agua., tal y como se aprecia en la siguiente figura.



Sin embargo si se suma el total de ovocitos (o CL) de ambos grupos, se tendrá un total de 12 ovocitos (o CL), lo que es correspondiente a la tasa ovulatoria normal en la especie, razón por la cual podría suponerse que el estímulo obtenido no es de trascendencia. Para ello es importante considerar el supuesto que si se aplicara el PRP en ambas bursas ováricas la tasa ovulatoria esperada, a la concentración utilizada, sería de 16 ovocitos, lo que supone un aumento del 30% en la tasa ovulatoria normal, de ahí la necesidad de seguir investigando el aumento en la dosificación del PRP o en la concentración de los principios activos de éste, a través de una velocidad de centrifugación mayor.

CONCLUSIONES

El PRP aplicado intrabursalmente permitió obtener el doble de ovocitos y Cuerpos Lúteos que donde se aplicó el agua y que la supuesta aplicación en ambas bursas podría, a la dosis y condiciones empleada aquí de PRP, proveer un 30% de mayor tasa ovulatoria. Es importante continuar esta investigación a manera de encontrar el tratamiento más eficiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. M.J. Nicolau Subires (2021) Rejuvenecimiento ovárico. Tesis de Maestria. Universidad Europea. Madrid España. 35pp
2. L. Marques, T. Stressuk, I.C. Cherici, N.S. Junior, L. Dos Santos, J. Ribeiro-Paes. (2015) Platelet-rich plasma (PRP): Methodological aspects and clinical

- applications. Platelets, Early Online: 1–13DOI: 10.3109/09537104.2014.881991
3. L.I. Atkinson, Francesca Martin y Roger G. Sturme. (2021) Intraovarian injection of platelet-rich plasma in assisted reproduction: too much too soon? Human Reproduction, pp. 1737–1750 doi:10.1093/humrep/deab10
 3. L. V. Verdugo Martínez y C. E. Melo Sánchez (2022) Uso terapéutico de plasma rico en plaquetas (prp) en endometritis persistente inducida por reproducción. Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Arauca. 58pp
 4. V.A. Shamrai, O.I. Misiurko, D.I. Grebeniuk, I.V.Taran (2022) Ovarian toxicity of fac chemotherapy in rats and possibility of its correction with platelet-rich plasma. Exp Oncol. 2022 Nov;44(3):239-242. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-3.18393.

APLICACIÓN DE UNA METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN DE MUCÍLAGO DEL NOPAL DE LAS ESPECIES *OPUNTIA FICUS-INDICA* Y *OPUNTIA ROBUSTA*

José Juan Carreón Barrientos, Yolanda Mahely Morales Padilla, Nancy Edith Pacheco Guerra

Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

pepecarreon@ugto.mx

RESUMEN

El agua que se destina al consumo humano debe ser tratada previamente para su uso seguro, evitando de esta manera algún perjuicio en la salud del consumidor. Entre las fases que se realizan en el tratamiento del agua se encuentra la aplicación de coagulantes químicos, usualmente sulfato de aluminio, el cual se utiliza para agrupar moléculas de impurezas que en grandes conjuntos son fácilmente eliminables. En estudios recientes se ha observado que el mucílago de nopal puede ser utilizado como un coagulante natural, siendo una alternativa amable con el medio ambiente debido a su origen. En este proyecto, se realizó la extracción del mucílago de nopal de dos especies distintas (*Opuntia ficus-indica* y *Opuntia robusta*) provenientes de la zona de Guanajuato capital y Dolores Hidalgo C.I.N. Guanajuato. El método de extracción consistió de 4 etapas: extracción, separación, purificación y obtención del producto final en polvo. Los resultados obtenidos muestran que es posible la extracción de cantidades pequeñas (3 g mucílago en polvo / 250 g de nopal) de mucílago de nopal utilizando la metodología propuesta, el cual puede ser utilizado en el tratamiento de aguas de manera directa.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que afecta a varias comunidades de la ciudad de Guanajuato Capital es la mala calidad de agua que se les administra, así como la contaminación de sus principales fuentes hídricas. Dado que el agua proviene de ríos, lagos, lluvias y manantiales, esta trae consigo impurezas, gases, polvo y microorganismos, los cuales pueden afectar la salud del ser humano y, por ende, debe ser sometida a un proceso de potabilización haciéndola apta para el consumo humano. Las bacterias, virus y parásitos son partículas coloidales que pueden adherirse a otro tipo de materia en suspensión, generando el aumento de la turbidez y el riesgo de enfermedades gastrointestinales¹.

Los coagulantes primarios utilizados en el proceso de potabilización del agua permanecen basados en compuestos inorgánicos convencionales de aluminio o hierro, como el sulfato de aluminio, aluminato de sodio, sulfato ferroso, sulfato férrico y cloruro férrico. La mayoría son sales ácidas que reducen el pH del agua por lo cual, dependiendo del agua a tratar, se necesita añadir un álcali como cal o sosa cáustica². Además, dichos productos químicos a veces son costosos o tienen la posibilidad de tener efectos adversos sobre la salud y el medio ambiente. El sulfato de aluminio, es el coagulante químico más usado para la clarificación del agua ya que remueve los microorganismos entre un 90 y 99% al ser usado en condiciones óptimas¹. No obstante, podría ser fácilmente asimilado por el ser humano, con potenciales secuelas negativas a largo plazo. Sus efectos se asocian con numerosas formas de cáncer, Alzheimer y patologías óseas. Una concentración de aluminio mayor a 0,1 mg/L en agua para consumo humano podría ser un factor de riesgo para la demencia y para la enfermedad de Alzheimer. Además, el sulfato de aluminio crea enormes porciones de lodos que no son viables

para ser usados como biosólidos, pues impactan de manera negativa los suelos y el agua gracias a su ecotoxicidad. Por lo anterior, surge como alternativa para sustituir o minimizar el uso del sulfato de aluminio, la utilización de coagulantes naturales, como lo es el mucílago de nopal.

TEORÍA

El nopal pertenece a la familia de las cactáceas que constituyen una de las familias botánicas más abundantes en México con una gran cantidad de géneros y especies, una extraordinaria variabilidad morfológica y de adaptación a los distintos tipos de vegetación y medios ecológicos. Desde tiempos remotos estas han sido importantes y han estado ligadas a una gran cantidad de culturas y pueblos americanos, desde la época prehispánica y hasta nuestros días. En muchas partes del mundo, se hace uso de estas de distintas maneras, algunas son alimenticias, forrajeras y otras son importantes por sus propiedades medicinales. Otros de los usos y aplicaciones que se le ha dado es en la clarificación de agua utilizando la savia mucilaginoso de pencas³. El nopal en general, posee en su composición química un 60% al 95% de agua, 11.5% de azúcares, 1.55% de proteínas, 3.12% de pectinas y 0.16% de lípidos. Las pencas de nopal excretan una sustancia “viscosa” llamada mucílago, este es uno de los componentes más importantes ya que forma parte de la fibra dietética.

El mucílago del nopal es un polisacárido fibroso, altamente ramificado, cuyo peso molecular oscila alrededor de 13×10^6 g/mol. Contiene aproximadamente de 35% a 40% de arabinosa, 20% a 25% de galactosa y xilosa cada una, y de 7% a 8% de ramnosa y ácido galacturónico cada uno⁴. El mucílago de nopal es una sustancia análoga a las gomas y se considera importante para la industria de alimentos debido a sus propiedades de viscosidad⁵. Tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua⁶, así como de modificar propiedades como viscosidad, elasticidad, textura y retención de agua. Adicionalmente, es un buen gelificante, espesante, y emulsificante⁷. Puesto que el mucílago está compuesto de un porcentaje considerable de polisacáridos, otras de sus propiedades incluyen una alta capacidad complejante responsable de la retención de los iones metálicos, una gran capacidad biodegradable (diferente a muchos compuestos coagulantes sintéticos) y una mínima toxicidad en polímeros naturales (sustancias que tienen propiedades coagulantes o floculantes y en muchos lugares son usados en forma empírica por los nativos para aclarar el agua turbia con resultados satisfactorios). Finalmente, una de sus propiedades de mayor interés para el tratamiento del agua es su formación de dispersiones viscosas al estar en contacto con dicho líquido.

La importancia de esta investigación radica en el uso de un método de fácil extracción de mucílago de dos especies distintas de nopal (*Opuntia ficus-indica* y *Opuntia robusta*) para emplearlo como coagulante químico alternativo al sulfato de aluminio en la potabilización del agua. Es por esto que se desea extraer mucílago de nopal en polvo de manera artesanal. Esta técnica utiliza equipo y material de bajo costo. Dicha metodología es fácil de utilizar y está comprobado que las propiedades del nopal pueden disminuir y hasta eliminar la contaminación presente en el agua. Por lo tanto, se pretende contribuir a la potabilización de agua para uso y consumo humano.

PARTE EXPERIMENTAL

El proceso experimental se llevó a cabo en la Escuela de Nivel Medio Superior de Guanajuato. Después de llevar a cabo algunas pruebas preliminares con especies *Opuntia ficus-indica* y *Opuntia*

monacantha, se llegó a la conclusión de que no se seguía el proceso ideal para el objetivo que se busca, por lo que se decidió continuar con la metodología realizada en diferentes fases tomando en cuenta la bibliografía consultada, como se detalla a continuación:

La metodología aplicada para la obtención del mucílago de nopal consta de las siguientes etapas:



RESULTADOS

1.- Extracción

Selección de nopales y variedades para llevar a cabo la extracción. Se seleccionaron dos variedades de nopal, siendo *Opuntia robusta* y *Opuntia ficus-indica* con las que se trabajaron.

Lavado del nopal con agua potable.

Pelado manual del mismo. Se trató de no desprender la piel superficial del nopal para posteriormente pesar cada lote de este obteniendo un kilo de cada variedad.

Molienda del nopal junto con agua destilada con ajustes de proporciones en función del resultado. Se hicieron 3 pruebas por cada variedad. Inicialmente se probó la proporción 1:2 durante diez minutos a la primera velocidad en una licuadora convencional, dando como resultado espuma que abarca aproximadamente un cuarto de la mezcla total. Con el objetivo de reducir este factor, se probó con la relación 275 g de nopal, 500 ml de agua destilada, seguido de la proporción 403/500 respectivamente. Posteriormente se retiró la espuma manualmente. Esto en el *Opuntia robusta*. En cuanto al *Opuntia ficus-indica*, se probó con las relaciones 300/375, 400/600 y 400/400.

Calentado de la sustancia resultante del paso anterior a 90 °C por 10 minutos. En este apartado se resaltan dos momentos cualitativos de importancia en ambas variedades, pues, a partir del momento en que la mezcla alcanza temperatura de 80 °C, comienza una fase de cambio de color descartando el color verde brillante por uno opaco hasta llegar a unos tonos amarillentos cuando se alcanzan los 90 °C. De la misma manera, se mantuvo constante el pH de 7 antes y después del calentado. Así mismo, en las 3 pruebas realizadas de ambas variedades se removió constantemente al igual que se midió la temperatura de las sustancias en todo momento.

Enfriamiento. A continuación, se cubrieron los recipientes para evitar contaminación y se dejaron enfriar.



Figura 1. Izquierda a derecha. Cladodios de *Opuntia ficus indica*. Pelado de *Opuntia ficus indica*.

Licuada del nopal con agua destilada. Enfriamiento de la sustancia.

2.- Separación

Centrifugación. Realizada a 3500 rpm durante 20 minutos. Anterior a este paso se filtró la sustancia con gasas para descartar la fibra y facilitar la extracción del mucílago. Consecuentemente se centrifugaron todas las pruebas por igual.

Desecho del precipitado. Se realizó succionando de la parte mayormente líquida y se descartó la parte precipitada de cada tubo de ensaye.



Figura 2. Izquierda a derecha. Filtrado de la sustancia con gasas. Centrifugado de la sustancia.

Extracción del mucílago. Mucílago de nopal en vaso de precipitado.

3.- Purificación

Baño María. Efectuado durante 130 minutos a 65 °C en todas las pruebas por igual.

Enfriamiento. Posterior a esto, se cubrieron los contenedores para evitar contaminación.

Insolubilización de polímeros. Realizado con etanol al 96% en una relación 1:4 dejándose reposar a 4 °C por 48 horas. Realizado en todas las pruebas por igual sin cambio notorio aparente entre una prueba y otra.



Figura 3. Izquierda a derecha. Mucílago a baño María. Insolubilización de polímeros. Mucílago con etanol reposando.

4.- Obtención del producto final en polvo.

Deshidratación. Hecha con el mezclado de etanol en estufa al vacío por 30 min.

Producto final. Mucílago en polvo.



Figura 4. Mucílago de Nopal en polvo.

CONCLUSIONES

Se logró utilizar una metodología de fácil extracción de mucílago de dos especies distintas de nopal *Opuntia ficus-indica* y *Opuntia robusta* a partir de la bibliografía consultada. Los resultados obtenidos muestran que es posible la extracción de cantidades pequeñas (3 g mucílago en polvo / 250 g de nopal) de mucílago de nopal utilizando la metodología propuesta, el cual puede ser utilizado en el tratamiento de aguas de manera directa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Miller, S., Fugate, E., Craver, V., Smith, J. and Zimmerman, J. (2008). Toward understanding the efficacy and mechanism of *Opuntia spp.* as a natural coagulant for potential application in water treatment. *Environmental Science & Technology*, 42 (12), 4274-4279.
2. Cogollo, J. (2011). Clarificación de aguas usando coagulantes polimerizados: caso del hidroxiclorigenato de aluminio. *Dyna*, 78 (165), 18-27.
3. Vázquez González, Osvaldo. 1994. Extracción de coagulantes naturales de nopal y aplicación en la clarificación de agua superficiales. Tesis MIA. Universidad Autónoma de Nuevo León. Pág. 3-4-12.
4. Gibson, C. A., Nobel, S. P. (1990). En "The cactus primer". First Harvard University Press paperback edition. Pág. 196-199.
5. Sepúlveda, E., Sáenz, C. Aliaga, E. and Aceituno, c. (2006). "Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia spp.*". Dto. De Agroindustria y Enología, Facultad de Ciencias Agrómicas, Universidad de Chile. Santiago Chile.
6. Ruiz, H. F., Guerrero, B. J. A. (2009). "Aplicación de las películas Comestibles a base de quimostato y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananasa*) en refrigeración". Tesis de maestría. Ciencia en Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Puebla. Pág. 21-23.
7. Álvarez, O. C., Díaz S. C., Ramírez V. D. y Yáñez F.J. (2007). "Secado por Aspersión de Mucílago de Nopal". IX Congreso de ciencia de los alimentos y V foro de ciencia y tecnología de alimentos. Departamento de Bioingeniería. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. IPN. Guanajuato, Gto. Pág. 277.

DISEÑO DE UN PROTOTIPO AUTOMATIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES EN FUNCIÓN DE LA LUMINOSIDAD

Angeles Zorayda Martínez¹, Jaime Herrera Gamboa¹, Merit Cisneros Gonzalez¹, Ramiro Robles Villanueva², Darío Cisneros Arreola¹, Manuel Ismael Mata Escobedo¹ y Oscar Gilberto Alanís Villanueva¹

Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, carretera Durango-México km 22.5.
zorayda_mtz@hotmail.com

RESUMEN

La producción de hongos comestibles cada día está en crecimiento por lo cual el aprender a producirlos de una manera domestica nos asegura darle al consumidor una satisfacción de haber cultivado su propio alimento, esta práctica marca un paso precedente en el manejo consiente de la practica agrícola que favorece al medio ambiente y a la salud, ya que para su producción se utilizan residuos agroindustriales, el diseño practico de este prototipo le da la oportunidad de tenerlo en áreas de la casa teniendo los más altos niveles de inocuidad, ya que este prototipo es capaz de controlar las condiciones climatológicas que se requieren para un crecimiento adecuado de los hongos comestibles que son la temperatura, humedad e intensidad de la luz led, esto nos asegura una producción satisfactoria y de alta calidad. En estudios anteriores se ha concluido que la implementación de luz led favorece en el crecimiento y desarrollo en la etapa de aparición de los cuerpos fructíferos al igual que incrementa sus propiedades nutritivas. En México el panorama actual que se vive con los problemas de nutrición y salud se vinculan con la pobreza, aunado a esto se vincula por el bajo consumo de proteínas por los costos cada vez más excesivos de la proteína de procedencia animal, esto tiene un impacto negativo en los problemas de salud y sobrepeso que se presenta colocando a México en el segundo lugar de obesidad y con problemas de diabetes, todo esto es por la mala alimentación y por el estilo de vida que han tomado los mexicanos en la actualidad un mexicano consume alrededor de 9,267 calorías diarias y tan solo 265 gramos de proteínas de los 285 gramos recomendados por la secretaria de salud, por ello existen trabajos realizados por investigadores que buscan alternativas de fuentes de alimentación enriquecidas con una alto valor nutrimental que ayude con la ingesta diaria recomendada. En la actualidad el consumo mundial de hongos se estima alrededor de 25 millones de toneladas provenientes de 30 especies y estas cifras cada día van en aumento, este incremento acelerado se debe porque cada vez se conocen más sus propiedades alimentarias y medicinales, algunas de estas propiedades son el reforzamiento del sistema inmunológico y la presencia de nueve aminoácidos esenciales en la dieta requeridas para el ser humano. Para el desarrollo y programación del prototipo se utilizó una caja de plástico con medidas de 32.5 cm de alto, 85 cm de largo y 46 cm de ancho donde se implementaron componentes electrónicos que ayudaran a controlar las condiciones climatológicas que requiere el cultivo de hongos, para posteriormente ser programados en el sistema de Arduino. Para la evaluación del prototipo se cultivó el hongo *Pleurotus ostreatus* de acuerdo con metodologías consultadas con anterioridad. En este diseño se evaluaron diferentes tratamientos con materiales lignocelulósicos disponibles en la región y se sometieron a diferentes tiempos de fotoperiodo. Los sustratos utilizados fueron bagazo mezcalero, paja de avena y una mezcla del 50 % de agave mezcalero y 50 % de paja de avena en repeticiones triples. Siendo el más exitoso la paja de avena ya que se presentó mejor respuesta desde la inoculación invadió primero el sustrato y presento cuerpos fructíferos en comparación de los otros dos tratamientos los periodos de exposición de luz led incrementaron la aparición de los cuerpos fructíferos.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son organismos eucariotas y heterótrofos que pertenecen al reino fungí, ecológicamente divididos en parásitos, micorrícicos y saprobios. Algunas especies tienen valor comercial, como las comestibles y/o medicinales, que de acuerdo con su naturaleza como degradadores de materia orgánica pueden ser cultivados en diferentes tipos de sustratos lignocelulósicos (Montoya et al; Gaitán, 2015). La producción de hongos comestibles que se realiza bajo condiciones controladas puede generar alternativas de producción doméstica, proporcionando al consumidor un producto inocuo y de alto valor nutricional (Zepeda et al., 2016). Además, se aprovechan los residuos generados en procesos agroindustriales, inhibiendo su impacto negativo al medio ambiente, generando un producto de alto valor nutricional para el consumidor. Por esta razón es necesario desarrollar nuevas estrategias tecnológicas de automatización aplicadas al cultivo de especies de hongos de interés comestible, que permitan la disminución de los costos y la implementación de tecnología, innovación y programación de procesos (Montoya et al., 2018).

De acuerdo con Montoya et al. (2018) la producción de hongos comestibles contempla diversas etapas, tales como la selección y acondicionamiento del sustrato, inoculación, incubación, fructificación y cosecha. Así mismo el uso de luz LED presenta ventajas al incorporarse en módulos de producción como; no generan calor, tiene un bajo consumo de energía y presenta un espectro lumínico estable. En el estudio mencionado se reportaron efectos positivos en la producción de cuerpos fructíferos de *Ganoderma* y *Pleurotus* spp bajo condiciones de luz blanca y azul.

Por lo anterior, es necesario desarrollar estrategias que permitan aplicar en conjunto conocimientos de biología e ingeniería para hacer más eficiente la producción doméstica de hongos comestibles, a través de la manipulación de los factores que afectan la productividad del cultivo. El objetivo del presente trabajo fue diseñar un prototipo automatizado para la producción de hongos comestibles en función de la luminosidad.

TEORÍA

Los hongos comestibles contienen entre el 19 al 35% de proteínas utilizables en peso seco, esto comparando con el de las frutas y hortalizas. Estos también contienen tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), piridoxina (vitamina B6), cobalamina (vitamina B12) y ácido ascórbico (vitamina C), entre algunos otros; además también podemos encontrar minerales como lo son el fósforo, hierro, calcio y potasio. Otra característica es que se puede recomendar como dietéticos por su bajo contenido en carbohidratos, alto valor nutritivo, propiedades antidiabéticas, anticancerígenas, reducen el colesterol, bajos en grasas, sodio y alto contenido de fibra (Gaitán, 2015).

En el mundo existen alrededor de 2000 especies de hongos comestibles, pero solamente entre 5 y 6 se cultivan a niveles industriales, como es el caso del género *Pleurotus ostreatus*. De manera comercial, es conocido como hongo ostra u orellana, han adquirido un valor elevado debido a sus cualidades gastronómicas, nutritivas y medicinales. Por otra parte, estas especies se caracterizan por desarrollarse en sustratos ricos en lignina y celulosa, para ser cultivados podemos utilizar diferentes sustratos agroindustriales y forestales (ICIDCA, 2014). De acuerdo con Sampayo en (2019) menciona que el cultivo de hongos implica diferentes técnicas de cultivo, y cada una de estas se debe llevar a cabo con un alto nivel de cuidado. Como lo es la selección, preparación, acondicionamiento del sustrato, inoculación e incubación, para ello se debe tener en cuenta la especie de hongo que será cultivada. Los hongos del género *P. ostreatus* son los más fáciles y menos costosos de producir, debido a la alta adaptabilidad y productividad que presentan las setas de este género (Jaramillo, 2005).

En Colombia, se ha estado trabajando en el desarrollo de proyectos enfocados a la automatización de procesos para el cultivo de especies de hongos comestibles mediante la implementación de sensores para el control de temperatura y humedad (Ramírez, 2012). Recientemente en el año de 2017, en Bolivia se desarrolló un sistema de monitoreo y control de cámaras de incubación y fructificación para la producción de hongos comestibles y medicinales, para desarrollar nuevas técnicas de producción agrícola, y mejorar la producción de hongos comestibles (Vargas et, al 2017). De la misma forma Sampayo en 2019 menciona que la implementación de nuevas tecnologías puede generar alternativas para la producción doméstica. Por ende, la automatización de algunos procesos contribuye al mejoramiento y a incrementar la eficacia de los recursos, así mismo beneficia a países en desarrollo económico ya que estos se pueden implementar a diferentes sectores de la sociedad.

PARTE EXPERIMENTAL

Descripción del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, en el laboratorio de Biotecnología vegetal y en el centro de cómputo, como material biológico se utilizaron cepas del hongo *Pleurotus ostreatus*. Para la etapa del cultivo se utilizó la metodología propuesta por Roblero-Mejía et al., (2021).

Desarrollo del prototipo automatizado

Para el diseño del prototipo automatizado se utilizó una caja de plástico con medidas de 32.5 cm de alto, 85 cm de largo y 46 cm de ancho, un sensor de humedad DHT11, un Arduino uno, un Arduino mega, un humidificador ultrasónico, un ventilador y tiras de luz LED, inyector de oxígeno, se conectaron todos los componentes electrónicos y se programaron de acuerdo con un código generado en la base de datos de Arduino IDE.

Obtención del inóculo

Para la obtención y preparación del inóculo se utilizó semilla de sorgo, con humedad de entre 70-80%, se almacenaron en frascos de 900ml y estos se esterilizaron en una autoclave vertical a 121 °C y 15 libras de presión por 15 minutos. Posteriormente fueron enfriados a temperatura ambiente y se inocularon con fragmentos del micelio del micelio de *Pleurotus ostreatus* en un área aséptica, y se incubaron a una temperatura de 28 °C durante 20 días en completa oscuridad, hasta su completa colonización

Selección y acondicionamiento de sustratos

Para la selección de los sustratos se utilizaron materiales lignocelulósicos que se encuentran disponibles en la región, como paja de avena y bagazo mezcalero. Fueron lavados, deshidratados para posteriormente ser homogenizados en partículas de 1-2 cm para su utilización.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizó un diseño factorial que consistió en evaluar tratamientos a diferentes proporciones, utilizando frascos de vidrio de 1000 ml como unidades experimentales (Tabla 1), se esterilizaron en una autoclave vertical a 15 libras de presión a temperatura de 121 °C durante 20 minutos, se enfriaron a temperatura ambiente y se inocularon en un área aséptica.

Tabla 1. Descripción de tratamientos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* utilizando paja de avena y bagazo mezcalero

Tratamiento	Proporción (%)	Sustrato	Repetición	Exposición de luz
T1	100	Paja de avena	3	12 Hrs
T2	100	Bagazo mezcalero	3	12 Hrs
T3	50:50	Paja de avena/bagazo mezcalero	3	12 Hrs

Incubación y fructificación

Para la inoculación los sustratos se llevaron a una temperatura de 28 °C en completa oscuridad de 4-6 semanas. Al término de la colonización de nuestros tratamientos se trasladan al prototipo casero automatizado para la etapa de fructificación y cosecha.

Análisis bromatológico

La determinación bromatológica se realizó siguiendo la metodología de la AOAC, (2005) Los parámetros que se determinaron fue el porcentaje de nitrógeno, proteína, humedad, cenizas, grasas y fibra cruda.

Análisis de resultados

Los datos obtenidos fueron procesados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de medias de Tukey (0.05) en el software estadístico SPSS v. 24.

Material/Cantidad/Costos para la fabricación del prototipo automatizado

Para la realización e implementación del prototipo automatizado se tuvo un costo general de \$1534 pesos sin considerar las mermas del incremento de los precios y del sobrante de cada uno de la materia prima utilizada, el cual se describe específicamente en la tabla 2

Tabla 2. Materiales y costos para la fabricación del prototipo

material	cantidad	Costo
Caja de plástico	1	\$250
Humidificador ultrasónico	1	\$105.00
Sensor de humedad DHT11	1	\$95.00
ARDUINO MEGA	1	\$239.00
ARDUINO UNO	1	\$190.00
Luz led RGB	2	\$580.00
Ventilador	1	\$75.00

RESULTADOS

De acuerdo con el análisis de varianza se encontraron diferencias estadísticas, en las variables de crecimiento micelial, porcentaje de nitrógeno, humedad, cenizas y grasas. El mayor crecimiento micelial fue en el tratamiento 3 con 28 días (Grafica 1). Una vez que se completó la colonización en los sustratos, fueron introducidos al prototipo automatizado, donde al exponerse a las condiciones de luz, humedad y temperatura se registró diferencias en la aparición de cuerpos fructíferos en las propiedades nutrimentales (Tabla 3) redujeron 0.65% las grasas en el tratamiento 3, para el porcentaje de nitrógeno se observó un ligero incremento utilizando una mezcla de avena con bagazo de agave de 2.64%. Para las proteínas no se registraron diferencias con un porcentaje promedio de 16.04%. Para el contenido de humedad, el tratamiento 3 presentó mayor proporción de humedad 8.37%, en cenizas todos los tratamientos presentaron diferencias, resaltando el tratamiento con bagazo de agave y en el caso de la fibra cruda no se presentaron diferencias.

Grafica 1. Resultado de velocidad de crecimiento micelial

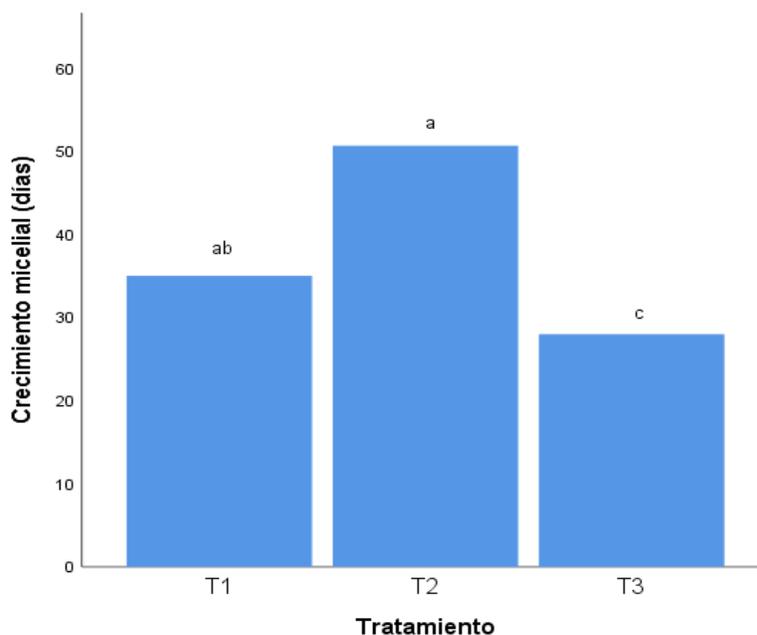


Tabla 3. Resultados promedios de análisis bromatológicos de cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*.

	T1	T2	T3
% Nitrógeno	2.57 ± 0.05 ab	2.64 ± 0.01 ab	2.65 ± 0.05 a
% Proteínas	16.06 ± 0.02 a	16.05 ± 0.05 a	16.06 ± 0.01 a
% Humedad	8.08 ± 0.01 c	8.26 ± 0.01 b	8.38 ± 0.01 a
% Cenizas	6.14 ± 0.1 ab	6.65 ± 0.01 a	6.1 ± 0.01 ab
% Grasas	2.74 ± 0.01 a	3.39 ± 0.01 a	2.09 ± 0.01 a
% Fibra Cruda	5.58 ± 0.01 a	5.57 ± 0.01 a	5.57 ± 0.01 a

*se muestra el valor de las medias ± desviaciones estándar. Letras en minúscula muestran el agrupamiento de prueba rango múltiple de Tukey (0.05).

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que la exposición a la luz led azul beneficia al cultivo de hongos comestibles de la especie de *Pleurotus ostreatus* con una exposición de fotoperiodo de 12 Hrs, de igual forma para la producción de hongos se recomienda utilizar los sustratos de bagazo mezcalero y de paja de avena en una proporción de 50/50.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Lorenzo Acosta (mayo-agosto 2014) ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar, 2014, vol. 48, no. 2, pp. 13 – 23)
2. NOVA (Julio - diciembre De 2008) publicación científica en ciencias biomédicas - iISSN:1794-2470 VOL.6 No10 101-236
3. Carmenza Jaramillo López- Nelson Rodríguez Valencia¹ (Editado en octubre 2005) CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES DEL GÉNERO *Pleurotus* SOBRE RESIDUOS AGRÍCOLAS DE LA ZONA CAFETERA
4. Báñales santos, E. (2019). Evaluación de producción de tres cepas de *Pleurotus spp* en residuos de agroindustriales. Tesis de ingeniería en Innovación agrícola sustentable. Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana.
5. Lina María Anaya Sampayo., Paula Jimena Coronado Guzmán (2019). Desarrollo de un prototipo de huerto casero automatizado para el cultivo de hongos comestibles (*Lentinula spp.* y *Pleurotus spp.*) en espacios interiores. Universidad el bosque facultad de ingeniería programa de bioingeniería Bogotá dc
6. Montoya, S., López, D. M., y Segura, B. (2018). Influencia de la luz sobre la producción del cultivo solido de *Ganoderma Lucidum*. Revista colombiana de Biotecnología, 20 (1). 51-58.
7. Carlos Eduardo Ardón López, Guatemala (octubre de 2007) La producción de los hongos comestibles, Universidad de San Carlos de Guatemala Facultada de Humanidades, Departamento de Postgrado, Maestría en docencia universitaria con especialidad en evaluación educativa
8. Zepeda–Bastida, A., Ojeda-Ramírez, D., Soto-Simental, S., Rivero-Pérez, N., & Ayala-Martínez, M. (2016). Comparison of antibacterial activity of the spent substrate of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes*. Journal of Agricultural Science, 8(4), 43-49.
9. Ramírez Hernández (1971) J, Arroyo P, Chávez VA. Aspectos socioeconómicos de los alimentos y la alimentación en México. Revista de Comercio Exterior ;21(8):675-86. Publicación: Barquera S, Rivera-Dommarco (2001) J, Gasca-García A. Políticas y programas de alimentación y nutrición en México. Salud Pública; 43:464-77.
10. Ávila Curiel A, Shamah Levy T, Chávez Villasana A. (1996) Encuesta Nacional de Alimentación y Nutrición en el Medio Rural, Resultados por entidad. México, D.F.: Instituto Nacional de Nutrición.
11. Dr. Rigoberto Gaitán Hernández (2007)., La importancia nutricional y medicinal de los hongos cultivados
12. Rodríguez, J. D., & Sanabria, N. F. (2012). Control de temperatura y humedad para cultivo de hongos comestibles shiitake. Visión electrónica, 6(1), 104-114.
13. Vargas, Y. S., & Molina, Y. W. (2017). Diseño de un sistema de monitoreo y control de cámaras de incubación y fructificación para la producción de hongos comestibles y medicinales. Boliviano de Ciencias. 38(13), 44-53.
14. Dorf, R., Bishop, R., Canto, D., Canto, R., & Dormido, S. (2005). Sistemas de control moderno. Pearson Prentice Hall.
15. Dr Rigoberto Gaitán Hernández la importancia de algunos hongos como suplemento alimenticio.
16. Dra. Rosa Catalina Bermúdez Savón, Lic. Humberto Joaquín Morris Quevedo, Dr. Carlos Donoso Fernández, Lic. Clara Esther Martínez Manrique y Dr. Edgar Iván Ramos Sevilla, (sep.-dic. 2003) Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus var. Florida*. Revista cubana Invest Bioméd v.22 n.4 Ciudad de la Habana
17. Pierre Agustín Freundt Espinosa (2003), Producción y comercialización de hongos comestibles para el mercado nacional e internacional

18. Alef (marzo 2015) La luz, factor detonador y regulador en la producción de hongos, medio ambiente
19. Análisis de la Varianza ANOVA (2017), Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
20. Pruebas, (2019) <https://www.scientific-european-federation-osteopaths.org/wp-content/uploads/2019/01/PRUEBAS-POST-HOC.pdf>
21. AOAC 2005 Métodos Oficiales de la AOAC (OMA – Official Methods of Análisis)

NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPs) EN EL CRECIMIENTO Y PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS DEL SIMBIOSISTEMA *Azolla-Anabaena azollae*

Amelia López-Herrera^{1*}, Hilda A. Zavaleta-Mancera², Libia I. Trejo-Téllez³,
Alejandro Alarcón⁴, José R. García-Nava⁵

1-5Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: amelie1504@gmail.com

RESUMEN

Las nanopartículas de plata (AgNPs) son los nanomateriales más comercializados y representan más del 50% de los productos de consumo mundial de nanomateriales. En aguas residuales, las AgNPs y partículas del AgCl se han detectado en soluciones de desechos de lavandería, por lo que, si estos residuos son vertidos a los ecosistemas acuáticos, es imperante conocer el efecto en plantas y animales. En el caso de las plantas acuáticas, el efecto tóxico de las AgNPs es poco conocido y es preciso realizar investigaciones para conocer la interacción de estas plantas con las nanopartículas, debido a que son los productores primarios en sistemas acuáticos. *Azolla filiculoides* es una pteridofita heterospórica flotante de agua dulce, pertenece a la familia Azollaceae y es nativa del continente americano; se distribuye en todo el mundo, principalmente en aguas tranquilas de zonas tropicales, subtropicales y templadas de ríos, represas, arroyos y charcos temporales. Crece rápido con una alta tasa de duplicación, por lo cual es una planta usada en fitorremediación de aguas superficiales contaminadas por compuestos orgánicos e inorgánicos. Es importante evaluar si las plantas acuáticas que exhiben potencial para fitorremediación de dichos compuestos pueden aplicarse en la remediación de nanopartículas metálicas, debido a que éstas pueden responder diferente a nivel fisiológico y verse afectadas en procesos vitales como la fotosíntesis. El presente estudio evaluó el efecto de concentraciones crecientes de nanopartículas de plata (AgNPs) 0.0, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, 100.0 mg L⁻¹ en el crecimiento de *Azolla filiculoides* y los pigmentos fotosintéticos del simbiosistema *Azolla-Anabaena azollae*. La biomasa fresca (BF) y la biomasa seca (BS) de *A. filiculoides* disminuyó al incrementar las concentraciones de AgNPs en la solución nutritiva, después de 8 d de exposición. La correlación Rho de Spearman de la BF y BS, con respecto a los tratamientos con AgNPs, sugiere una correlación negativa significativa, ($r = -0.98$, $r = -0.94$, $p \leq 0.05$, respectivamente), lo que significa que mientras la concentración de AgNPs en la solución nutritiva aumenta, la biomasa de *A. filiculoides* disminuye. Mediante la regresión de la BF y BS con la concentración de AgNPs, se observó que ésta es de tipo no lineal (decrecimiento exponencial). Con el modelo es posible predecir el valor de BF o BS a partir de la concentración de AgNPs. El contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, clorofila b, clorofila a+b y carotenoides) disminuyó significativamente con respecto al testigo. En el índice de verdor (a+b) / (x+c), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de AgNPs o comparados con el testigo (Tukey, $p \leq 0.05$). La mayor reducción de biomasa y disminución del contenido de pigmentos fotosintéticos, ocurrió en la concentración más alta (100.0 mg AgNPs L⁻¹).

INTRODUCCIÓN

Azolla filiculoides es una pteridofita heterospórica flotante de agua dulce, pertenece a la familia Azollaceae y es nativa del continente americano. Crece rápido con una alta tasa de duplicación, por lo cual es una planta usada en fitorremediación de aguas superficiales contaminadas por compuestos orgánicos e inorgánicos (Sánchez-Viveros et al., 2011).

El esporofito presenta tallos rizomatosos con ramificación subdicotómica. Las frondas son triangulares o poligonales que a primera vista presentan un aspecto poco convencional al resto de los helechos. Las hojas son bilobadas, dispuestas en forma alternada e imbricadas. El lóbulo flotante

es fotosintético y presenta una cavidad en la cual se encuentra la cianobacteria filamentosa *Anabaena azollae*, formada por células vegetativas y heterocistos. Los heterocistos son células especializadas para realizar la fijación de N₂ y las células vegetativas son fijadoras de CO₂, ambas coexisten en un solo filamento. Los aminoácidos como la glutamina son portadores de nitrógeno y son transportados a las células vegetativas. A su vez, los carbohidratos son portadores de carbono y son producidos por la célula vegetativa, los cuales son transferidos a los heterocistos, para generar el poder reductor requerido para la fijación del N₂. *A. filiculoides* proporciona un ambiente cerrado para *A. azollae* dentro del lóbulo flotante y a cambio, la cianobacteria captura el N₂ atmosférico, que luego está disponible para el crecimiento de *Azolla* (Grajales-Tam, 2014). El lóbulo sumergido, por el contrario, es traslúcido y no fotosintético.

Además, *A. filiculoides* es capaz de extraer grandes cantidades de CO₂ de la atmósfera, lo que le permite realizar el proceso de fotosíntesis de tipo C₃, y contribuir a reducir la amenaza del cambio climático, en tanto que las cianobacterias en asociación, como *A. azollae*, tienen una tasa de crecimiento más baja y una capacidad disminuida para asimilar amonio y reducir fotosintéticamente el CO₂ (Meeks, 1988). Los cloroplastos de *A. filiculoides* contienen clorofila a, así como clorofila b, mientras que los filamentos de la cianobacteria *A. azollae* contienen solo clorofila a junto con ficobilinas. Tanto *A. filiculoides* como *A. azollae* contienen carotenoides (Tyagi et al., 1980; Young y Britton, 1993). Es importante evaluar si las plantas acuáticas que exhiben potencial para fitorremediación de metales pueden aplicarse en la remediación de NPs metálicas, debido a que éstas pueden responder diferente a nivel fisiológico y verse afectadas en procesos vitales como la fotosíntesis y el crecimiento o acumulación de biomasa. Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluó el efecto de concentraciones crecientes de nanopartículas de plata (AgNPs): 0.0, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0, 100.0 mg L⁻¹, en el crecimiento de *Azolla filiculoides* y los pigmentos fotosintéticos del simbiosistema *Azolla-Anabaena azollae*.

PARTE EXPERIMENTAL

Tratamientos y unidad experimental (UE)

Se emplearon 6 tratamientos incluyendo al testigo: 0.0, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 y 100.0 mg AgNPs L⁻¹ en un diseño experimental completamente al azar. Se colocó 1 g de la planta en un contenedor de plástico con 200 mL de solución hidropónica Yoshida sin adición de N y pH=5. Los contenedores fueron puestos en un invernadero con temperatura de 22 ± 0.20 °C, humedad relativa de 56 ± 1.1%, y radiación fotosintéticamente activa de 488 ± 3.6 μmol m⁻² s⁻¹, por 8 d.

Biomasa fresca (BF) y seca (BS)

Se emplearon 5 repeticiones por tratamiento. La BF de cada UE se registró en una balanza analítica; posteriormente el tejido fresco se secó a 60 °C por 72 h para obtener la BS. Se realizó ANOVA y comparación de medias (Tukey, p ≤ 0.05) con los datos obtenidos de BF y BS. Se hizo correlación Rho de Spearman (p ≤ 0.05) con el paquete estadístico SAS 9.4 y regresión usando SigmaPlot 14, para generar una ecuación (modelo) que permitió predecir el valor de una variable a partir de la otra.

Tasa de crecimiento relativo (TCR) y tasa de duplicación (TD)

La TCR y la TD se calcularon a partir de las ecuaciones propuestas por Hoffmann y Poorter (2002) y Andrade et al. (2013). Los datos fueron transformados a ln antes de estimar la TCR y la TD.

Contenido de pigmentos fotosintéticos

Se usaron 8 repeticiones por tratamiento. El contenido de pigmentos fotosintéticos (a+b, clorofila a y b, carotenoides: xantofilas (x) + carotenos (c) y el índice de verdor (a+b) / (x+c), fueron estimados mediante la extracción de pigmentos en material fresco (100 mg), el cual fue triturado en un mortero con N₂ líquido y 1 mL de metanol al 96% frío. Los extractos obtenidos se pusieron en una microcentrífuga a 3000 rpm a 4 °C por 10 min, posteriormente se colocaron 250 μL del sobrenadante en una microplaca de 96 pozos y se midió la absorbancia del sobrenadante en un espectrofotómetro a 470, 653 y 666 nm. El contenido de pigmentos fotosintéticos fue calculado usando las ecuaciones

propuestas por Dere et al. (1998). La concentración de los mismos fue convertida a μg unidad experimental -1 . El índice de verdor, se obtuvo de la relación $(a+b) / (x+c)$. Posteriormente, con los datos se hizo ANOVA y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$), con el paquete estadístico SAS 9.4.

RESULTADOS

Las biomazas fresca (BF) y seca (BS) de *A. filiculoides* disminuyeron al incrementar las concentraciones de AgNPs en la solución nutritiva, después de 8 d de exposición. La correlación Rho de Spearman de las BF y BS, con respecto a los tratamientos con AgNPs, sugiere una correlación negativa significativa, ($r = -0.98$, $r = -0.94$, $p \leq 0.05$, respectivamente), lo que indica que mientras la concentración de AgNPs en la solución nutritiva aumenta, la biomasa de *A. filiculoides* disminuye (Fig. 1).

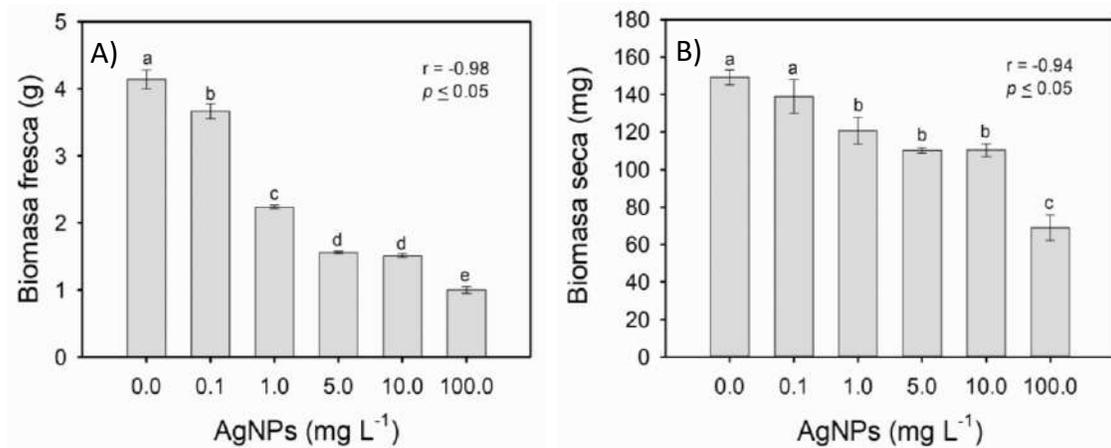


Figura 1. A) Biomasa fresca (BF) y B) Biomasa seca de *A. filiculoides* expuesta a concentraciones crecientes de AgNPs por 8 d. Los datos son medias \pm EE, letras diferentes sobre las barras, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$), $n=5$.

Mediante la regresión de la BF y BS con la concentración de AgNPs, se observó que ésta es de tipo no lineal (decrecimiento exponencial) (Fig. 2).

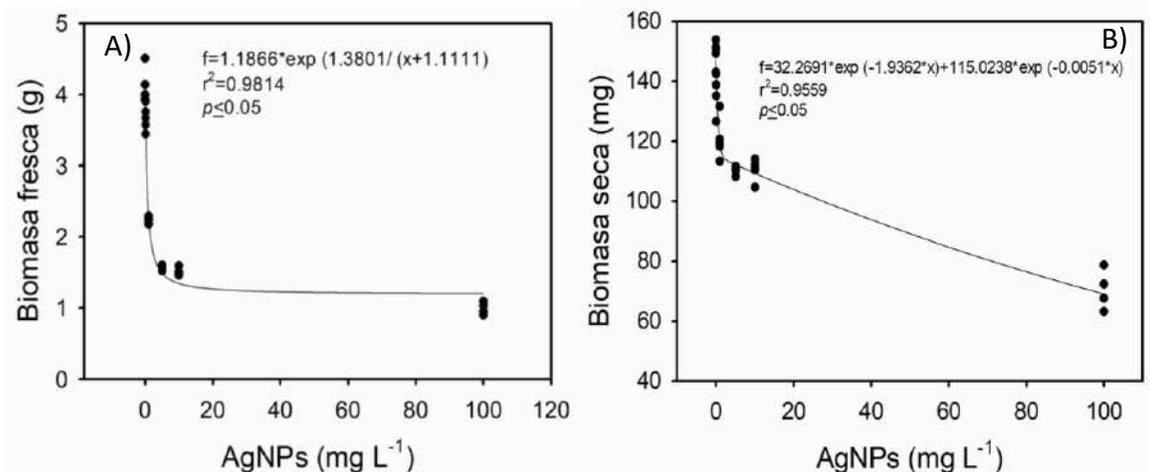


Figura 2. A) Regresión no lineal de la biomasa fresca (BF) y B) biomasa seca (BS) de *A. filiculoides* expuesta a concentraciones crecientes de AgNPs por 8 d. Los datos son medias \pm EE, letras diferentes sobre las barras, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$), $n=5$.

Con el modelo es posible predecir el valor de BF o BS a partir de la concentración de AgNPs (Cuadro 1). La mayor TCR se observó en el testigo ($0.15 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) con una TD de 14 h. En la concentración de NPs más alta ($100.0 \text{ mg AgNPs L}^{-1}$) la TCR se redujo tres veces ($0.05 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$) y la TD aumentó casi cuatro veces (46 h), con respecto al testigo (Cuadro 2).

AgNPs (mg L^{-1})	Biomasa fresca (g)		Biomasa seca (mg)	
	Modelo	Experimental	Modelo	Experimental
0.0	4.11	4.14	147.29	149.32
0.1	3.71	3.67	141.55	138.82
1.0	2.28	2.24	119.09	120.66
5.0	1.49	1.56	112.13	110.20
10.0	1.34	1.51	109.30	110.42
100.0	1.20	1.00	69.07	69.06

Cuadro 1. Valores predichos de la biomasa fresca y seca calculados a partir de los modelos de regresión, comparados con los valores obtenidos experimentalmente.

AgNPs (mg L ⁻¹)	TCR (g g ⁻¹ d ⁻¹)	TD (h)
0.0	0.15 ± 0.004 a	13.86 ± 0.32 d
0.1	0.14 ± 0.007 a	14.82 ± 0.87 cd
1.0	0.12 ± 0.004 b	17.40 ± 0.36 cb
5.0	0.11 ± 0.004 b	18.55 ± 0.24 b
10.0	0.11 ± 0.004 b	18.54 ± 0.69 b
100.0	0.05 ± 0.013 c	46.09 ± 3.35 a

Cuadro 2. Tasa de crecimiento relativo (TCR) y tasa de duplicación (TD) de *A. filiculoides*, después de 8 d de cultivo en concentraciones crecientes de AgNPs.

Medias ± EE. Letras diferentes en columnas indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$), $n=5$.

El contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila *a+b* y carotenoides) disminuyó significativamente con respecto al testigo. En el índice de verdor $(a+b) / (x+c)$, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos de AgNPs o comparados con el testigo (Tukey, $p \leq 0.05$) (Fig. 3).

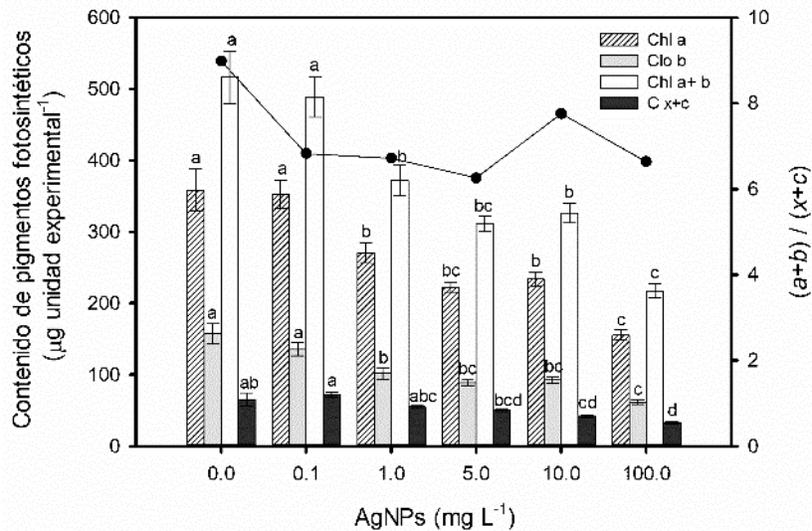


Figura 3. Contenido de pigmentos fotosintéticos e índice de verdor $(a+b) / (x+c)$ de *A. filiculoides* expuesta a concentraciones crecientes de AgNPs por 8 d. Medias ± EE, letras diferentes sobre las barras, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$), $n=8$.

CONCLUSIONES

El crecimiento y el contenido de clorofila *a*, clorofila *b* y clorofila *a+b* disminuyeron conforme las concentraciones de AgNPs aumentaron. El contenido de carotenoides también disminuyó significativamente con respecto al testigo. La mayor afectación en la disminución del crecimiento y contenido de pigmentos fotosintéticos ocurrió en la concentración más alta estudiada (100 mg AgNPs L⁻¹).

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Young & G. Britton, "Carotenoids in photosynthesis", United Kingdom: Springer Science+Business Media Dordrecht. 1993, pp. 1-126.
2. C. E. Andrade, N. M. Morales, A. L. Vera, L. Jonte, B. Briceño, N. L. Rosales & E. D. Morales, "Comparative assessment of *Lemna obscura* growth with organic and inorganic nitrogen sources as a function of pH", Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia, Vol. 36, 2, 2013, pp. 143-152.
3. G. Sánchez-Viveros, R. Ferrera-Cerrato & A. Alarcón, "Short-term effects of arsenate-induced toxicity on growth, chlorophyll and carotenoid contents, and total content of phenolic compounds of *Azolla filiculoides*", Water, Air, & Soil Pollution, Vol. 217, 1-4, 2011, pp. 455-462, <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0600-0>
4. J. C. Meeks, "Symbiotic associations", In: *Methods in Enzymology: Cyanobacteria* (Academic Press., Orlando, Florida, 1988), Chapter 8, pp.113-121.
5. K. M. Grajales-Tam, "Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 185, Familia *Azollaceae*". Pátzcuaro, México: Instituto de Ecología, A. C., 2014, pp. 1-13.
6. S. Dere, T. Günes, & R. Sivaci, "Spectrophotometric determination of chlorophyll - A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents", Turkish Journal of Botany, Vol. 22, 1998, pp.13-17.
7. V. V. S. Tyagi, B. C. Mayne & G. A. Peters. "Purification and initial characterization of phycobiliproteins from the endophytic cyanobacterium of *Azolla*", Archives of Microbiology, Vol. 128, 1980, pp. 41-44, <https://doi.org/10.1007/BF00422303>
8. W. Hoffmann & H. Poorter, "Avoiding bias in calculations of relative growth rate", Annals of Botany, Vol. 90, 1, 2002, pp. 37-42, <https://doi.org/10.1093/aob/mcf140>

NEODIMIO EN EL CONTENIDO DE AZUFRE EN VÁSTAGOS DE PLÁNTULAS CHÍA

Natalia López-De Lara¹, Ma. Guadalupe Peralta-Sánchez²,
Fernando C. Gómez-Merino³, Olga Tejeda-Sartorius⁴, Libia I. Trejo-Téllez^{5*}

¹⁻⁵Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. ³Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba.

*E-mail: tlibia@colpos.mx

RESUMEN

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una planta herbácea anual, cuyas semillas están siendo valoradas por su altos valores nutricionales y medicinales. Además, el aceite de chía es bien valorado dado su alto contenido de ácidos grasos insaturados. Los bioestimulantes inorgánicos, como el Nd, promueven la absorción eficiente de nutrimentos; y el S es un elemento clave en la síntesis de ácidos grasos. En este estudio se evaluó el efecto de la aplicación foliar de Nd (0, 25, 50, 75, 100 y 125 μ M) en el contenido de S en vástagos de chía. Para ello se condujo un experimento en un diseño completamente al azar con ocho repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una maceta con tres plántulas. Se realizaron tres aspersiones foliares con un intervalo de aplicación de 10 d. La concentración de S en vástago fue realizada en el extracto resultante de la digestión de tejido vegetal seco y molido con una mezcla de ácidos, y leído en un equipo de espectrometría de emisión óptica (OES) de inducción por plasma acoplado (ICP). Con los resultados de concentración de S y la biomasa seca de vástagos, se estimó el contenido de S. Con los datos obtenidos se realizaron pruebas de homogeneidad y normalidad; posteriormente análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$). El contenido de S en vástago de plantas del tratamiento testigo fue de 3.72 mg. El tratamiento con 25, 100 y 125 μ M Nd, redujeron el contenido de S de 8.8, 11 y 7.9% respectivamente, en comparación con el testigo. Por el contrario, dosis de 50 y 75 μ M Nd aumentaron en 17.5 y 16.5%, respecto al testigo. Estos resultados muestran que el Nd ocasionó efectos horméticos en esta variable; donde el rango positivo para la acumulación de S se sitúa entre 50 y 75 μ M Nd; misma que, mejora el estatus de S y por tanto puede incrementar la síntesis de ácidos grasos insaturados en el aceite de chía.

INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una especie originaria de México. Su semilla tiene un especial significado en numerosos países de América Latina, dado que ha sido consumida desde la antigüedad por los pueblos mesoamericanos. La importancia del uso de la chía como ingrediente en bebidas en el México precolombino se encuentra bien documentada. Para los aztecas, la cosecha de chía era tan importante como la del maíz, y junto con el amaranto, eran cultivos muy apreciados. Los usos culinarios de la semilla de chía van desde semilla entera, harina de la semilla, mucílago de la semilla y aceite de la semilla (Valdivia-López *et al.*, 2015).

La importancia del consumo de la semilla de chía es debido a sus propiedades nutricionales y medicinales. El aceite de chía presenta altos contenidos de ácidos grasos insaturados (Hrnčič *et al.*, 2020), especialmente el ácido graso esencial ω -linolénico, que puede representar hasta el 75% del peso de la semilla (Valdivia-López *et al.*, 2015).

El azufre (S) es uno de los elementos esenciales para plantas superiores, pues es requerido para el adecuado crecimiento y desarrollo. Es componente estructural de los enlaces disulfuro (S-S) de

proteínas, aminoácidos, vitaminas y cofactores (Narayan *et al.*, 2022). Además, el S es clave en la síntesis de ácidos grasos (Körber *et al.*, 2022).

La bioestimulación de cultivos ha mostrado ser una tendencia creciente a nivel mundial, en virtud de que incrementa la tolerancia a factores de estrés abiótico en los cultivos, promueve el crecimiento vegetal y estimula la absorción y el uso de nutrimentos (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018). Dentro de los bioestimulantes inorgánicos se encuentra el neodimio (Nd), elemento del grupo de los lantánidos, que forman parte además del grupo de los denominados elementos benéficos (Gómez-Merino *et al.*, 2023).

En esta investigación se evaluó el efecto de la aplicación foliar de Nd en el contenido de S en vástagos de chíá.

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación del experimento y condiciones experimentales

Este estudio se realizó en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, en un invernadero tipo túnel con malla antiáfidos en las paredes laterales y cubierta plástica con ventana cenital.

Material vegetal

Se utilizaron plántulas de chíá (*Salvia hispanica* L.), obtenidas de la siembra directa de semillas en macetas (8 cm x 10.5 cm x 8 cm; alto x diámetro x largo; 360 cm³ de capacidad). Como sustrato se empleó turba (Premier Horticulture Inc., ProMix FLX, Canadá). Se sembraron 12 semillas por maceta. Posterior a la emergencia, se dejaron tres plántulas por maceta.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos consistieron en aplicaciones foliares de soluciones con las siguientes concentraciones de neodimio (Nd): 0, 25, 50, 75, 100 y 125 μ M. La fuente de Nd fue NdCl₃ 6H₂O (Sigma-Aldrich, Estados Unidos). A las soluciones se les adicionó Tween™ 20 (Hycel, México) a una concentración de 0.1%. El tratamiento testigo (0 μ M Nd) consistió en agua destilada con 0.1% de Tween™ 20.

Las aplicaciones foliares se iniciaron cuando las plántulas tenían 14 días de edad, y se realizaron con aspersores manuales de 1 L, en intervalos de 10 días. Para las aspersiones foliares se aislaban las macetas por tratamiento para evitar contaminación, y se aplicaron hasta el punto de rocío. Se realizaron tres aspersiones foliares durante el ensayo.

Cada tratamiento tuvo ocho repeticiones. La unidad experimental fue una maceta con tres plántulas, y el diseño experimental tuvo una distribución completamente al azar en el invernadero.

Manejo del experimento

La nutrición de las plantas se hizo a través del riego con solución nutritiva Steiner con una concentración de 25% (Steiner, 1984). La composición (en mol·m⁻³) de macronutrimentos en dicha

solución fue: 3 NO₃⁻, 0.25 H₂PO₄⁻, 1.75 SO₄²⁻, 1.75 K⁺, 2.25 Ca²⁺ y 1 Mg²⁺. Adicionalmente, la composición de micronutrientes (mg L⁻¹) en dicha solución fue de: 5 Fe, 2.33 Mn, 0.47 Zn, 0.19 Cu, 0.43 B y 0.17 Mo. Las soluciones nutritivas se prepararon con sales grado reactivo de las marcas Meyer (México) y Fermont (México). La solución nutritiva se empleó con un pH ajustado a 5.5.

Durante los primeros 30 días de desarrollo de la plántula, éstas se regaron con 50 mL de solución nutritiva al 25%. Después de los 30 días se aumentó el volumen de riego a 100 mL por el incremento de las necesidades hídricas de la planta. Los riegos se realizaban cada dos días.

Variables evaluadas

Después de tres aspersiones foliares, se cortaron los vástagos de chíya y se secaron a 70 °C por 48 h, en una estufa de aire forzado (Riossa HCF-125, México). Posteriormente se determinó el peso de biomasa seca de vástagos con una balanza analítica (Adventurer Ohaus Pro AV213C; Estados Unidos). En el material seco y molido se determinó la concentración de S, mismo que fue sometido a una digestión húmeda con una mezcla de ácidos (HNO₃:HClO₄, 2:1, v:v). El extracto resultante de la digestión fue leído en un equipo de espectrometría de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-AES 725-ES, Agilent, Estados Unidos).

Los resultados de concentración de S y la biomasa seca de vástagos, fueron usados para la estimación del contenido de S.

Análisis de datos

Una vez comprobados los supuestos de homogeneidad y normalidad, los datos fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$) usando SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS

La forma aniónica de azufre (SO₄²⁻) es la principal fuente de este elemento para las plantas, y generalmente está presente en cantidades mínimas en el suelo. Esta forma de S es soluble en agua, por lo que se filtra fácilmente del suelo. El azufre y los compuestos que contienen azufre actúan como moléculas de señalización en el manejo del estrés, así como en los procesos metabólicos normales (Narayan *et al.*, 2022).

El contenido foliar de S osciló entre 3.31 y 4.37 mg. Los tratamientos 50 y 75 μ M Nd causaron mayor contenido de S con respecto a los tratamientos con 25, 100 y 125 μ M Nd (Figura 1). Al ser un elemento benéfico, el Nd mostró que desencadena efectos horméticos, lo que indica una respuesta bifásica dependiente de las dosis (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018). En este estudio, se observaron efectos positivos del Nd con bajas concentraciones (50 a 75 μ M) y, por el contrario, negativos con dosis altas (mayores a 100 μ M) en lo que respecta al contenido de S en vástago. La hormesis en vástagos, está asociada con la promoción de la actividad fotosintética (Feng *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2018), lo cual promueve el desarrollo de la planta.

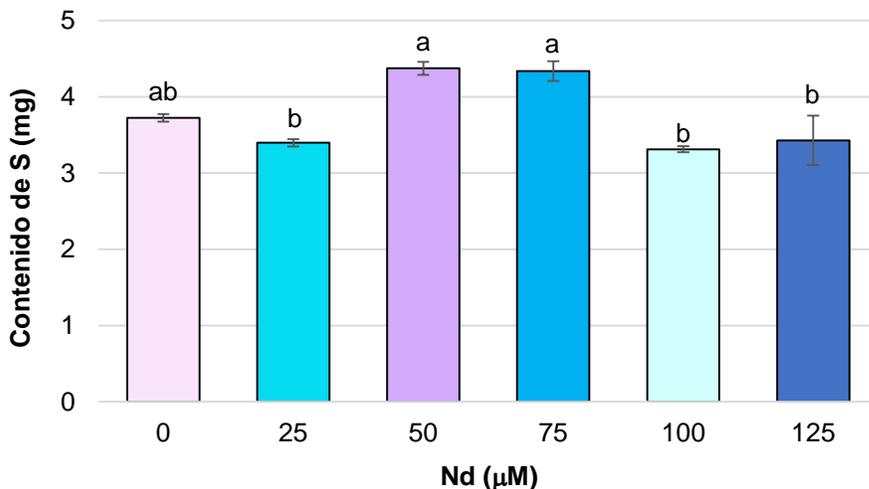


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de Nd en el contenido foliar de azufre (S) de plantas de chíá. Medias \pm DE con letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Si bien ninguno de los tratamientos con Nd fue estadísticamente diferente al testigo, se observan incrementos medios de 16.7% con las dosis 50 y 75 μ M Nd. Este incremento resulta importante para aumentar la calidad de la semilla de chíá. En plantas superiores, la biosíntesis de lípidos está estrechamente relacionada con el azufre (Bates *et al.*, 2013). Por ejemplo, el S incrementa la concentración acetil-coenzima A, la actividad de la enzima acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa), además de aumentar los contenidos de proteínas solubles, azúcares y almidones en semillas desarrolladas. Este incremento en fuentes de C debido al abasto suficiente de S, representa la materia prima para la biosíntesis de aceites (Ahmad *et al.*, 2000). Asimismo, se ha demostrado que la nutrición azufrada tiene influencia en los lípidos sulfoquinovosil-diacilglicerol (SQDG) presentes en la membrana de los tilacoides y en los ácidos grasos de los galactolípidos (Körber *et al.*, 2022).

En menta (*Mentha arvensis*) y en albahaca dulce (*Ocimum basilicum*), la fertilización con S no solo aumentó el rendimiento sino también la calidad del aceite esencial (Kumar *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2014).

La colza (*Brassica napus*), una de las especies oleaginosas más importantes a nivel global, presenta una alta concentración de S tanto en tejido como en la semilla y tiene una demanda particularmente alta de S en relación con su rendimiento potencial (Grant *et al.*, 2012).

Para mantener un buen estado de salud es necesario lograr un balance óptimo entre el suministro de vitamina B y folato, para cumplir con los requisitos de síntesis de proteínas y permitir la producción intracelular óptima de homocisteína, fosfatidilcolina, H₂S y glutatión en concentraciones compatibles con la regulación del metabolismo de lípidos (Blachier *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

En este estudio se pudo observar una curva hormética dosis-respuesta de la aplicación del elemento benéfico neodimio (Nd) en el contenido de S en tejido foliar de chía, especie que produce una semilla con altos contenidos de ácidos grasos insaturados benéficos para la salud humana. En específico, las dosis de 50 y 75 μ M Nd aumentaron los contenidos de S en tejido foliar. Tal aumento en el contenido foliar de S puede a su vez estimular la síntesis de ácidos grasos insaturados en el aceite de chía, lo que mejoraría la nutrición humana al consumir esta semilla.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Ahmad, I. J. Khan & M. Z. Abdin, "Effect of sulfur fertilisation on oil accumulation, acetyl-CoA concentration, and acetyl-CoA carboxylase activity in the developing seeds of rapeseed (*Brassica campestris* L.)", *Australian Journal of Agricultural Research*, Vol. 51, 8, 2000, pp. 1023-1029, <https://doi.org/10.1071/AR00052>
2. A. Kumar, H. K. Patro & Kewalanand, "Effect of zinc and sulphur on herb, oil yield and quality of menthol mint (*Mentha arvensis* L.) var. Kosi". *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, Vol. 2, 4, 2010, pp. 642-648.
3. C. A. Grant, S. S. Mahli & R. E. Karamanos, "Sulfur management for rapeseed", *Field Crops Research*, Vol. 128, 2012, pp. 119-128, <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.12.018>
4. F. C. Gómez-Merino, L. F. Gómez-Trejo-Téllez, R. Ruvalcaba-Ramírez & L. I. Trejo-Téllez, "Lanthanides as beneficial elements for plants", *In: Beneficial chemical elements of plants: Recent developments and future prospects* (Wiley, NJ, EE. UU., 2023), Chapter 15, *In press*.
5. F. C. Gómez-Merino, L. I. Trejo-Téllez. "The role of beneficial elements in triggering adaptive responses to environmental stressors and improving plant performance", *In: Biotic and abiotic stress tolerance in plants* (Springer Nature, Singapore, 2018), Chapter 6, pp.137-172, https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5_6
6. J. F. Feng, Y. Lin, Y. Yang, Q. Shen, J. Huang, S. Wang, X. Zhu & Z. Li. "Tolerance and bioaccumulation of Cd and Cu in *Sesuvium portulacastrum*". *Ecotoxicology Environmental Safety*, Vol. 147, pp. 306-312. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.056>
7. M. Á. Valdivia-López & A. Tecante, "Chia (*Salvia hispanica*)". *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 75, 2015, pp. 53-75, <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.06.002>
8. M. K. Hrnčič, M. Ivanovski, D. Cör & Ž. Knez, "Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): An overview—Phytochemical profile, isolation methods, and application". *Molecules*, Vol. 25, 1, 2020, pp. 1-19, <https://doi.org/10.3390/molecules25010011>
9. M. Oliveira, G. M. Moura, G. Zardetto, B. K. Cardoso, A. A. R. Alves, A. Tsukui, A., et al. Effect of sulphur on yield and chemical composition of essential oil of *Ocimum basilicum* L. *African Journal of Agricultural Research*, Vol. 9, 13, 2014, pp. 688-694, <https://doi.org/10.5897/ajar2013.7973>
10. M. Wu, Q. Luo, Y. Zhao, Y. Long, S. Liu & Y Pan, "Physiological and biochemical mechanisms preventing Cd toxicity in the new hyperaccumulator *Abelmoschus manihot*", *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 37, 3, 2018, pp. 709-718.
11. O. P. Narayan, P. Kumar, B. Yadav, M. Dua & A. K. Johri, "Sulfur nutrition and its role in plant growth and development". *Plant Signaling & Behavior*, Vol. 7, 2030082, 2022, <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2030082>

12. SAS High-Performance Forecasting 2.2: User's Guide. (Vol. 1 & 2). Cary, NC: SAS Institute Inc. Ver. 9), 2002. 652 p.
13. T. T. Körber, N. Frantz, T. Sitz, M.A. Abdalla, K.H. Mühling & S. Rohn. "Alterations of content and composition of individual sulfolipids, and change of fatty acids profile of galactolipids in lettuce plants (*Lactuca sativa* L.) grown under sulfur nutrition". *Plants*, Vol. 11, 10, 2022, pp. 1-10, <https://doi.org/10.3390/plants11101342>
14. F. Blachier, M. Andriamihaja & A. Blais. "Sulfur-containing amino acids and lipid metabolism. *The Journal of Nutrition*, Vol. 150, 2020, pp. 2524S-2531S, <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa243>

VANADIO EN EL NÚMERO DE FLORES EN PLÁNTULAS DE TOMATE TRATADAS CON SALINIDAD

Víctor Hugo Carbajal-Vázquez¹, Fernando C. Gómez Merino², Gabriel Alcántar-González³, María Guadalupe Peralta-Sánchez⁴, Libia I. Trejo-Téllez⁵*

¹⁻⁵ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

²Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953.

*E-mail: tlibia@colpos.mx

RESUMEN

A nivel mundial, el 6% del territorio agrícola es afectado por salinidad y se estima una pérdida del 50% para el 2050. El vanadio (V) es considerado un elemento benéfico debido a que la adición de éste en dosis bajas ($< 2 \text{ mg V L}^{-1}$) promueve el crecimiento de las plantas. Basado en lo antes expuesto, se estableció un experimento con plántulas de tomate cv. Río Grande bajo invernadero, en el cual se evaluó el efecto del V como bioestimulante (0, 25 y 50 $\mu\text{M V}$, a partir de NH_4VO_3) y del NaCl como agente causal de estrés salino (0, 50 y 100 mM) en la variable número de flores. Las plántulas tratadas se mantuvieron en vasos de unicel de 250 cm^3 con agrolita. A través de la solución nutritiva de Steiner al 50% se adicionaron los tratamientos salinos; del mismo modo, en intervalos de 7 d, se aplicaron cuatro aspersiones foliares con V por la mañana (06:00 h). A los 10, 20 y 30 días después de tratamientos (ddt) se contabilizaron el número de flores. Sin embargo, solo se reportan los datos obtenidos a los primeros 10 ddt. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$), con el software SAS. El resultado obtenido con la aplicación de la salinidad (50 y 100 mM NaCl) indica que el NaCl no afecta significativamente el número de flores a los 10 ddt, en comparación con el testigo. Por otro lado, la aplicación foliar con 50 $\mu\text{M V}$ redujo significativamente en 37% el número de flores de las plántulas tratadas, en comparación con el testigo. En cuanto a la interacción de los factores de estudio, no se observaron efectos significativos en la variable evaluada. Se concluye que las dosis de V utilizadas en este estudio tienen efecto negativo en el número de flores de plántulas de tomate cv. Río Grande bajo salinidad.

INTRODUCCIÓN

A nivel global, los efectos del cambio climático se ven reflejados en afectaciones en los cultivos agrícolas, a través de factores de estrés abiótico. La salinidad es un factor de estrés abiótico que afecta alrededor de 780 millones de hectáreas de suelo cultivable, esta superficie representa el 6% del territorio agrícola a nivel mundial y se estima una pérdida del 50% para el 2050 (Sanjuan *et al.*, 2015). En México, fenómenos como baja precipitación pluvial y la evapotranspiración, son factores importantes para que la salinidad incremente año con año, principalmente en zonas costeras.

Para el cultivo del tomate, niveles de salinidad superiores a 2.5 dS m^{-1} tienen efectos diferenciales según su etapa fenológica (Sanjuan *et al.*, 2015; Ladewig *et al.*, 2017). Esto es alarmante, debido a que, en México, el sistema producto tomate es de los cultivos con mayor importancia en generación de valor agregado, desarrollo y aplicación de tecnología. Tiene un alto impacto económico, ya que, en los últimos años, la producción ha incrementado 54.2%, lo mismo que sus exportaciones (77.8%), logrando con ello, colocarse como el país líder en exportaciones nivel mundial, desde el 2015 (SAGARPA, 2017). De igual manera, los estados con mayor producción son Sinaloa, San Luis

Potosí, Michoacán, Zacatecas y Jalisco, lo generado por estas entidades en conjunto, representó en el 2022 el 51.8% de la producción nacional de tomate (SADER, 2022).

Por otro lado, el vanadio (V) es un metal de transición, que como tal, ocupa el quinto lugar en abundancia en la corteza terrestre, puede encontrarse en el suelo en una concentración promedio de 110 mg kg^{-1} , su estado de oxidación más biodisponible es como V^{+5} , y existe evidencia que en niveles muy por debajo de 2 mg V L^{-1} puede promover el crecimiento y diferenciación plantas superiores (Akoumianaki *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2020). Como por ejemplo, en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) dosis con 250 ng V mL^{-1} se incrementa la concentración de clorofilas (Basiouny, 1984); en plantas de pantano llamadas “Campanilla” (*Ipomea aquatica* Forsk) la dosis de 0.05 mg V L^{-1} mejoró el crecimiento de estas (Chen *et al.*, 2016); en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) dosis desde 170 a $590 \text{ } \mu\text{M V}$ mejoraron la acumulación de biomasa fresca y la concentración foliar de P (Imtiaz *et al.*, 2017), y en plántulas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) con la dosificación de $5 \text{ } \mu\text{M V}$ se observaron incrementos en la altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas, yemas florales y volumen de raíz. Así como, mayor acumulación de biomasa fresca y seca (García-Jiménez *et al.*, 2018).

Con base en lo anterior, se evaluó el efecto de la aplicación foliar de vanadio en el número de flores de plantas de tomate sometidas a salinidad.

PARTE EXPERIMENTAL

Condiciones experimentales

Este estudio se desarrolló en un invernadero tipo túnel con ventana cenital y cobertura plástica.

Material vegetal

Se usaron plántulas de tomate, obtenidas de semilla cv. Río Grande (germinadas en charolas de unicel con 200 cavidades, usando turba como sustrato).

Instalación del experimento

A los 31 días después de la siembra, las plantas obtenidas se trasplantaron a vasos de unicel de 250 cm^3 conteniendo agrolita como sustrato.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

En esta investigación se evaluaron los efectos de dos factores de estudio: V como elemento benéfico y NaCl como agente causal de estrés salino. Los niveles de V fueron 0, 25 y $50 \text{ } \mu\text{M}$; empleándose como fuente metavanadato de amonio (NH_4VO_3). Las dosis de NaCl evaluadas fueron 0, 50 y 100 mM NaCl . Derivado de lo anterior, se condujo un experimento factorial 3×3 , dando un total de nueve tratamientos.

Durante 27 días después del trasplante (ddt), las plántulas se mantuvieron solamente en solución nutritiva (SN) de Steiner al 25%. Cumplidos 28 ddt la concentración de la SN se cambió al 50% y se inició con la adición de las distintas dosis de NaCl.

El V se asperjó de manera foliar a los 29 ddt. Posteriormente, se realizaron cuatro aspersiones hasta el punto de goteo, por la mañana (06:00 h), en intervalos de 7 d. Para romper la tensión superficial de la solución asperjada se usó Tween 20® como surfactante a una concentración de 0.5 g L⁻¹.

Cada tratamiento tuvo tres repeticiones, obteniendo nueve tratamientos por factor de estudio. Se tomó como unidad experimental una planta por vaso de unicel.

VARIABLES EVALUADAS

Pasados 10, 20 y 30 ddt se registró el número de flores. No obstante, solo se reportan los datos obtenidos a los 10 ddt.

ANÁLISIS DE DATOS

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$), con el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS

El resultado obtenido con la aplicación de los tratamientos con salinidad (50 y 100 mM NaCl) indica que el NaCl no afecta significativamente el número de flores a los 10 ddt, en comparación con el testigo como se observa en el Cuadro 1.

En un estudio realizado con plántulas de tomate cv Amalia y Claudia, cultivadas en un suelo clasificado como salino-sódico, con una CE de 4 dS m⁻¹, se reportó que a los 45 días después del trasplante, las plantas tuvieron un número promedio de flores de 21 y 15, respectivamente (Ávila *et al.*, 2022), lo que indica que la salinidad puede no tener efectos negativos en la floración, aún entre variedades distintas y con mayor tiempo de exposición a la salinidad.

Cuadro 1. Efecto principal de NaCl (agente causal de estrés osmótico) en el número de flores en plántulas de tomate cv. Río Grande.

NaCl (mM)	NF
0	3.9±1.9 a
50	3.5±1.7 a
100	3.9±2.3 a

Medias ± DE con letras distintas, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Mientras que, con las aplicaciones foliares, la dosis con 50 μM V redujo significativamente en 37% el número de flores de las plántulas tratadas, en comparación con el testigo (Cuadro 2). Este resultado se contrapone a lo reportado en plántulas de tomate cv. DRD8561, tratadas con 5, 10 y 15 μM V a partir de NH_4VO_3 , donde dichos tratamientos estimularon la floración (García-Jiménez *et al.*, 2021).

Cuadro 2. Efecto principal del V como bioestimulante en el número de flores en plántulas de tomate cv. Río Grande.

V (μM)	NF
0	4.4 \pm 1.8 a
25	3.6 \pm 1.6 a
50	2.8 \pm 2.1 b

Medias \pm DE con letras distintas, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

En cuanto a la interacción de los factores de estudio, no se observaron efectos significativos en la variable evaluada, como se puede observar en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Efectos interactivos del NaCl y V en el número de flores en plántulas de tomate cv. Río Grande.

NaCl (mM) \times V (μM)	NF
0-0	3.7 \pm 2.2 a
0-25	3.8 \pm 2.1 a
0-50	2.7 \pm 1.5 a
50-0	4.7 \pm 1.4 a
50-25	3.8 \pm 1.1 a
50-50	2.0 \pm 1.4 a
100-0	4.8 \pm 1.8 a
100-25	3.7 \pm 1.8 a
100-50	3.7 \pm 3.2 a

Medias \pm DE con letras distintas, indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Se concluye que las dosis de NaCl empleadas no tienen efectos negativos en la floración después de 10 días de tratamiento. Además, es posible afirmar que las dosis de V utilizadas en este estudio no tienen un efecto benéfico en el número de flores de plántulas de tomate cv. Río Grande; por el contrario, en condiciones de salinidad ocasiona un decremento en esta variable.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. García-Jiménez, L. I. Trejo-Téllez, D. Guillén-Sánchez & F. C. Gómez-Merino. "Vanadium stimulates pepper plant growth and flowering, increases concentrations of amino acids, sugars and chlorophylls, and modifies nutrient concentrations", PLoS ONE, Vol. 13, 2018, e0201908, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0201908>
2. A. García-Jiménez, L. I. Trejo-Téllez, M. G. Peralta-Sánchez, A. Contreras-Oliva & F. C. Gómez-Merino, "Vanadium stimulates growth and flower production in tomato without affecting seed germination", Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, Vol. 49, 2021, 12400, <https://doi.org/10.15835/nbha49412400C>
3. A. Akoumianaki, P. E. Barouchas, A. Kyramariou, E. Iliá & N. K. Moustakas, "Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.)", Bulletin UASVM Horticulture, Vol. 72, 2015, pp. 295-298, <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:11348>
4. C. Ávila-Amador, L. Algentel-Martínez, O. Peñuelas-Rubio, J. González-Aguilera & I. Fonseca-Reyna, "Respuesta del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la aplicación de QuitoMax® en condiciones de salinidad", Research, Society and Development, Vol. 11, 12, 2022, e10111233870, <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i12.338701>
5. F. M. Basiouny, "Distribution of vanadium and its influence on chlorophyll formation and iron metabolism in tomato plants", Journal of Plant Nutrition, Vol. 7, 1984, pp. 1059-1073, <http://dx.doi.org/10.1080/01904168409363265>
6. L. Chen, J. R. Liu, J. Gao, W. F. Hu & J. Y. Yang, "Vanadium in Soil-Plant System: Source, Fate, Toxicity, and Bioremediation". Journal of Hazardous Materials, Vol. 405, 2020, pp. 1-62.
7. L. F. Sanjuan, P. R. Vallejo, P. S. García, M. S. Villa, M. L. Muñoz, J. C. C. Rodríguez & C. P. Segovia, "Tolerancia de líneas nativas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la salinidad con NaCl", Interciencia, Vol. 40, 2015, pp. 704-709.
8. M. Imtiaz, M. S. Rizwan, M. A. Mushtaq, B. Yousaf, M. Ashraf, M. Ali, A. Yousuf, M. Rizwan, M. Din, Z. Dai, S. Xiong, S. Mehmood & S. Tu, "Interactive effects of vanadium and phosphorus on their uptake, growth and heat shock proteins in chickpea genotypes under hydroponic conditions", Environmental and Experimental Botany, Vol. 134, 2017. pp. 72-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.11.003>
9. P. Ladewig, F. C. Gómez-Merino, R. Servín-Juárez & L. I. Trejo-Téllez, "La salinidad afecta diferencialmente crecimiento y rendimiento de cuatro genotipos de tomate nativos de México", In: F. Pérez, E. Figueroa, L. Godínez, R. García (eds.), Ciencias de la Economía y Agronomía. Handbook T-II-ECORFAN, 2017.
10. SADER, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2022. Disponible en línea: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/llevele-llevele-jitomate-al-alcance-de-tu-huerto>. (mayo, 2023).

11. SAGARPA, "Jitomate mexicano: Planeación agrícola nacional, 2017-2030", Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2017. Disponible en línea: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>. (Octubre, 2019).
12. SAS Institute Inc, "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
13. T. Chen, T. Q. Li & J. Y. Yang, "Damage suffered by swamp morning glory (*Ipomoea aquatica* Forsk) exposed to vanadium (V)", Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 35, 2016, pp. 695-701, <http://dx.doi.org/10.1002/etc.3226>

EFFECTO DE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PROTEÍNAS DE AMARANTO EN CÉLULAS INTESTINALES Y HEPÁTICAS HUMANAS

Gloricel Serena-Romero¹, Anaís Iñot-Gutiérrez², Armando J. Martínez², Daniel Guajardo-Flores³, Elvia Cruz-Huerta E^{4*}

¹Doctorado en Ciencias Biomédicas, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91193, Xalapa, Veracruz, México.

²Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91193, Xalapa, Veracruz, México.

³Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Centro de Biotecnología FEMSA, Eugenio Garza Sada 2501 Sur, 64849, Monterrey, N.L., México.

⁴Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91193, Xalapa, Veracruz, México.

*elvcruz@uv.mx

RESUMEN

El estrés oxidativo inducido por la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el organismo se relaciona con el desarrollo de patologías crónicas, como la inflamación, enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, diabetes y cáncer. Por lo cual, muchas investigaciones se centran en explorar los efectos a nivel celular de los compuestos e ingredientes naturales con actividad antioxidante, puesto que pueden propiciar protección a condiciones de estrés oxidativo. Al respecto, el amaranto es un pseudocereal rico en proteínas con diversos efectos benéficos para la salud humana como propiedades antioxidantes y es durante la digestión gastrointestinal de estas proteínas se liberan péptidos bioactivos con potencial efecto antioxidante. Por lo que, en este estudio se evaluó el efecto de la digestión *in vitro* sobre la actividad antioxidante de proteínas de amaranto *Amaranthus cruentus* en células intestinales y hepáticas, y el concentrado de proteínas de amaranto (CPA) se sometió a digestión gastrointestinal *in vitro* siguiendo el protocolo armonizado de Infogest. Además, al CPA, los digeridos gástricos y gastrointestinales se les evaluó la actividad antioxidante mediante los métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC). Asimismo, al CPA y sus fracciones peptídicas con peso molecular < 5 kDa y > 5 kDa se evaluó la actividad antioxidante celular (AAC) empleando las líneas celulares de hepatocarcinoma humano (HepG2) y adenocarcinoma colorrectal humano (Caco-2), para evaluar el efecto contra el estrés oxidativo inducido por diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH). Los digeridos gastrointestinales del CPA, mostraron un mayor efecto antioxidante por el método DPPH ($1.97 \pm 0.07 \mu\text{mol ET mg}^{-1}$). Asimismo, la capacidad antioxidante contra radicales peroxilo del CPA y sus digeridos varió entre 1.57 y 1.78 $\mu\text{mol ET mg}^{-1}$, y el CPA y las fracciones pépticas de los digeridos no mostraron efecto citotóxico en las líneas celulares a concentraciones de 0.125 - 1 mg mL⁻¹. Las fracciones < 5 kDa de los digeridos gástricos de las proteínas de amaranto exhibieron un mayor efecto antioxidante en las células intestinales (Caco-2) y las fracciones intestinales < 5 kDa en las células hepáticas (HepG2), y a concentraciones de 0.250 mg proteína mL⁻¹ inhibieron el estrés oxidativo con valores de AAC de 133.94% y 165.36% respectivamente. Por lo que, podemos concluir que la digestión gastrointestinal *in vitro* de proteínas de amaranto favorece la liberación de péptidos bioactivos capaces de proteger a las células Caco-2 y HepG2 del daño oxidativo mediante la eliminación de ROS.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo puede alterar diversas funciones fisiológicas del organismo y se ha asociado con el inicio y la progresión de varias patologías digestivas, como las enfermedades inflamatorias y las disfunciones hepáticas (Alzoughaibi, 2013; Sánchez-Valle *et al.*, 2013). Además, el tracto gastrointestinal está constantemente expuesto a altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno, tanto por compuestos prooxidantes en la dieta como por especies reactivas generadas de forma endógena en el metabolismo del propio organismo (Zhu y Li, 2012). En particular, el hígado es especialmente susceptible a agentes tóxicos y oxidativos debido a su conexión directa con los órganos gastrointestinales y el bazo a través de la circulación portal hepática (Hsieh *et al.*, 2017). Por lo que, una dieta saludable puede reducir el riesgo de padecer diversas enfermedades, puesto que algunos alimentos contienen compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes (Paredes-López *et al.*, 2010).

Al respecto, las proteínas alimentarias se consideran excelentes antioxidantes, debido a que tienen la capacidad de inhibir la oxidación de otros componentes y neutralizar las especies reactivas de oxígeno (Soriano-Santos *et al.*, 2015). Además, durante la digestión de las proteínas se liberan péptidos bioactivos que pueden tener efectos benéficos para la salud, como propiedades antioxidantes. Por lo que, a nivel celular, estos péptidos pueden eliminar directamente las especies reactivas de oxígeno mediante la donación de hidrógeno o electrones, o inhibir la formación de dichas especies mediante la quelación de metales y estimular los sistemas de defensa antioxidantes celulares (Wen *et al.*, 2020). La capacidad antioxidante de los péptidos depende de sus características estructurales como longitud de la cadena, composición y secuencia de aminoácidos e hidrofobicidad (Indiano-Romacho *et al.*, 2019) y son los aminoácidos aromáticos, hidrofóbicos, azufrados, ácidos y básicos los que contribuyen a estas actividades antioxidantes. Sin embargo, para que los péptidos bioactivos ejerzan su efecto, deben ser liberados de su matriz alimentaria a través del procesamiento de los alimentos, hidrólisis enzimática o la digestión gastrointestinal (Ayala-Niño *et al.*, 2019).

En este contexto, el amaranto es un pseudocereal que destaca por su alto contenido de proteínas, y perfil de aminoácidos equilibrado (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2020). Sus proteínas se integran por albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas, que representan alrededor del 65, 17, 11 y 7% respectivamente, del total de proteínas. Además, contienen altas cantidades de aminoácidos esenciales como lisina, metionina, isoleucina y triptófano, convirtiéndola en una buena alternativa a las proteínas de origen animal (Rastogi y Sukla, 2013; Moscoso-Mújica *et al.*, 2017).

En investigaciones previas se ha registrado que durante la digestión de las proteínas de amaranto se liberan péptidos bioactivos con una notable actividad antioxidante (Vilcacundo *et al.*, 2019). Los cuales, han demostrado capacidad para inhibir diversas especies reactivas de oxígeno, como radicales peróxido e hidroxilo, así como peroxinitritos (García y Tironi, 2017) y a nivel celular puede ocurrir por la donación de hidrógenos o electrones, o inhibiendo la formación de ROS (García y Tironi, 2021). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la digestión *in vitro* sobre la actividad antioxidante de proteínas de amaranto (*Amaranthus cruentus*) en células intestinales y hepáticas. La evaluación de la actividad antioxidante a nivel celular también puede proporcionar información relevante para la selección de ingredientes alimentarios con capacidad antioxidante y esto podría contribuir al desarrollo de estrategias para promover la salud intestinal y prevenir enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

TEORÍA

El desequilibrio en el balance redox de la célula, causado por la producción excesiva de radicales libres y/o la disminución de los sistemas de defensa antioxidante, conduce al estrés oxidativo, que está relacionado con diversas enfermedades (Asmat *et al.*, 2016). Es así como, en los últimos años, se ha incrementado el interés por investigar alimentos de origen vegetal con propiedades antioxidantes para prevenir el estrés oxidativo y sus consecuencias. Los péptidos bioactivos derivados de proteínas vegetales son una alternativa en la prevención de enfermedades crónicas asociadas al estrés oxidativo. Estos péptidos, generalmente tienen secuencias cortas con una longitud de 2 a 20 aminoácidos con capacidad para reducir los procesos de oxidación y la producción de ROS, involucradas en el daño de estructuras biológicas (Dullius *et al.*, 2020). Es importante destacar que su actividad antioxidante se asocia con su estructura y composición que se caracterizan por la presencia de residuos aromáticos e hidrofóbicos como H, W, F, P, G, K, I y V (Yang *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2019), condición que permite que el péptido interactúe con las membranas de la bicapa lipídica y alcance los órganos diana (Zou *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2018; Dullius *et al.*, 2020).

Al respecto, el amaranto centra el interés de este estudio debido a sus propiedades nutrimentales y por ser un pseudocereal ampliamente cultivado y consumido en México (Venskutonis y Kraujalis, 2013), que se destaca por su alto contenido de proteínas (14-18 %) y por la presencia de aminoácidos esenciales como lisina que suele ser limitado en la mayoría de los cereales (Rastogi y Sukla, 2013). Además, el amaranto es libre de gluten y su proteína es segura para consumidores con enfermedad celíaca (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2020). Es así como las propiedades nutricionales y funcionales del amaranto lo sitúa como una fuente de proteína sostenible de alta calidad, comparable a la carne, la leche y la soja (Zhang *et al.*, 2023). Además, la hidrólisis de la proteína de amaranto puede liberar péptidos bioactivos con propiedades benéficas para la salud como actividad antioxidante, antihipertensiva, anticancerígena, antidiabética entre otras (Quiroga *et al.*, 2015).

Estudios previos han evaluado la actividad antioxidante de las proteínas de amaranto utilizando diferentes métodos. Por ejemplo, Pazinato *et al.* (2013) encontraron que los concentrados de proteínas de *A. cruentus* mostraron una mayor actividad antioxidante por DPPH después de la digestión *in vitro*, con un aumento de 2.27 a 12.17 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ en extractos acuosos y de 2.72 a 19.70 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ en extractos metanólicos. Por otro lado, Vilcacundo *et al.*, 2019, informaron una mayor actividad antioxidante por DPPH y ORAC en proteínas de *A. caudatus* después de la digestión *in vitro* utilizando pepsina y pancreatina. En hidrolizados de proteínas de *A. hypochondriacus* se registró una mayor actividad antioxidante después del uso combinado de alcalasa y flavourzyme medida por DPPH y FRAP, y una mayor actividad antioxidante medida por ABTS en proteínas hidrolizadas con flavourzyme, lo cual se asoció a la liberación de péptidos de menor tamaño durante la hidrólisis enzimática, los cuales presentaron un peso molecular de 500-1400 Da y contenían entre 4-13 residuos de aminoácidos (Ayala-niño *et al.*, 2019). Estos resultados resaltan el potencial antioxidante de las proteínas de amaranto. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que permitan ampliar el conocimiento sobre estas proteínas y analizar sus propiedades antioxidantes desde una perspectiva biológica, considerando su mecanismo de acción a nivel celular.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención del concentrado proteico de amaranto

El concentrado proteico de amaranto (CPA) se obtuvo siguiendo la metodología de Chirinos *et al.* (2020) con algunas modificaciones. Brevemente la harina desgrasada de amaranto *A. cruentus* se suspendió en agua (1:10 p/v) y se mantuvo en agitación durante 30 min a 50 °C y un pH ajustado a

10.0 con NaOH 1M. Posteriormente se centrifugó a 10 000 g por 20 min a 4 °C. El sobrenadante se ajustó a pH 4.8 con HCl 1M y se centrifugó a 10 000 g durante 10 min a 4 °C. El precipitado se lavó dos veces, se disolvió en agua, se neutralizó con NaOH 1M, se liofilizó y se mantuvo a -80 °C hasta su posterior análisis. El contenido de proteína del CPA se determinó por el método Kjeldahl.

Digestión gastrointestinal in vitro de concentrado de proteínas de amaranto

El CPA, fue digerido aplicando el protocolo armonizado de digestión estática INFOGEST (Brodkord *et al.*, 2019) que consta de la fase oral, gástrica e intestinal. Brevemente, en la fase oral, el CPA se mezcló (1:1 p/v) con fluido salival simulado (pH 7), amilasa salival (75 U mL⁻¹) y fue incubado con agitación (150 rpm) a 37 °C y pH 7 durante dos minutos. Para la fase gástrica, el bolo oral se diluyó (1:1; v/v) con fluido gástrico simulado (pH 3), se ajustó el pH a 3 con HCl 5 M y se agregó pepsina de mucosa gástrica porcina (2000 U mL⁻¹) y se incubó a 37 °C y pH 3 con agitación durante dos horas. En la fase intestinal, se mezcló la fase gástrica (1:1; v/v) con fluido intestinal simulado (pH 7), bilis [10 mM], pancreatina (100 U mL⁻¹) y se incubó a 37 °C y pH 7 durante dos horas.

Para detener la actividad de las enzimas digestivas se añadió el inhibidor de proteasas Pefabloc® SC (5 mM). Las enzimas y reactivos usados durante la digestión gastrointestinal se adquirieron de Merck, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). De forma paralela se usó un blanco de digestión que contenía una mezcla de las enzimas utilizadas en la misma concentración sin CPA. Finalmente, los digeridos gástricos e intestinales fueron ultrafiltrados empleando una membrana hidrofílica de 5000 kDa (Agilent Technologies, Inc., Waldbronn, Alemania). Las fracciones < 5 kDa y > 5 kDa fueron liofilizadas y almacenadas a -80 °C hasta su uso. Finalmente, el contenido proteico de los digeridos y las fracciones fue determinado por el método de ácido bicinónico (BCA) (Pierce, Rockford, IL, USA), empleando albúmina de suero bovino como estándar.

Determinación de actividad antioxidante

Inhibición del radical DPPH

Se empleó el método descrito por Brand-Williams *et al.*, (1995) y para ello, el radical DPPH [100 µM] se diluyó en metanol al 80%. 20 µL de la muestra y 180 µL del radical fueron añadidos e incubados durante 30 minutos. La absorbancia se midió a 514 nm utilizando un lector de microplaca (Multiskan FC modelo IVD, Finlandia). Se empleó una curva de calibración de Trolox (10-100 µM) como referencia y los resultados se expresaron como µmol ET mg⁻¹ bs.

Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

El ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno se realizó aplicando el protocolo descrito por Hernández-Ledesma *et al.* (2005) con ligeras modificaciones. De esta forma, la reacción se realizó en un buffer de fosfatos [70 mM], 2,2'-azobis (2-metilpropionamida)-dihidrocloruro (AAPH, 14 mM) y Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8- tetrametilcroman-2-carboxílico) [0.2- 1.0 mM] o muestra en distintas concentraciones. La fluorescencia se registró durante 120 minutos en un lector de microplacas (BioTek® Synergy HT KC4, Winooski, Vermont, USA) con filtros de 485 nm y de emisión de 520 nm, y los resultados se expresaron como µmol ET mg⁻¹ bs.

Actividad antioxidante celular

La actividad antioxidante celular (AAC), se determinó aplicando la metodología descrita por Gutiérrez-Grijalva *et al.* (2019). Donde se utilizaron células de adenocarcinoma colorrectal humano (Caco-2) y células de hepatocarcinoma humano (HepG2), que se cultivaron por separado en una placa de 96 pozos hasta alcanzar una densidad de 5×10^4 células/pozo. Las células se suspendieron en medio DMEM con 5% de suero fetal bovino y se incubaron a 37 °C con 5% de CO₂. Después de 24 horas, las células se lavaron con PBS y se incubaron con 100 µL de muestra y 60 µM de diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA) durante 20 minutos. Se utilizó una solución de DMEM + DCFH-DA como control positivo y una solución de DMEM como blanco. Después, se lavaron las células y se agregaron 100 µL de 2,2'-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH) [500 µM] para inducir estrés oxidativo. Finalmente, se midió la fluorescencia emitida a 538 nm con excitación a 485 nm cada 2 minutos durante 120 minutos a 37 °C. La AAC se calculó como porcentaje utilizando la ecuación 1:

$$AAC (\%) = \left(1 - \frac{\int SA}{\int CA} \right) \times 100 \quad (1)$$

Donde $\int SA$ es el área integrada bajo la curva de fluorescencia de la muestra en relación al tiempo y $\int CA$ es el área integrada de la curva control.

Análisis estadístico

Las variables de respuesta se analizaron con ANOVA unifactorial. Además, los gráficos muestran valores promedio \pm error estándar y las letras diferentes sobre las barras indican los poshoc para alfa de 0.05 en las comparaciones múltiples de Tukey. Todos los datos fueron analizados utilizando Statistica 7 (StatSoft, Inc., 2002-2007).

RESULTADOS

Actividad antioxidante por DPPH

La mayor actividad antioxidante por DPPH, se registró en los digeridos intestinales (1.97 ± 0.07 µmol ET mg⁻¹), mientras que la menor actividad antioxidante se obtuvo en el concentrado de proteínas sin digestión (Figura 1). Estos resultados coinciden con estudios previos que han demostrado un aumento en la actividad antioxidante de las proteínas de *A. cruentus* después de la digestión *in vitro* (Pazinatto *et al.*, 2013). De forma similar, en proteínas de *A. hypochondriacus* la mayor actividad antioxidante se presentó en un hidrolizado donde utilizaron la combinación de alcalasa y flavourzyme. Dicho efecto se vinculó al tamaño y composición de los péptidos, ya que secuencias con menos de 20 aminoácidos han presentado una alta actividad antioxidante (Zou *et al.*, 2016).

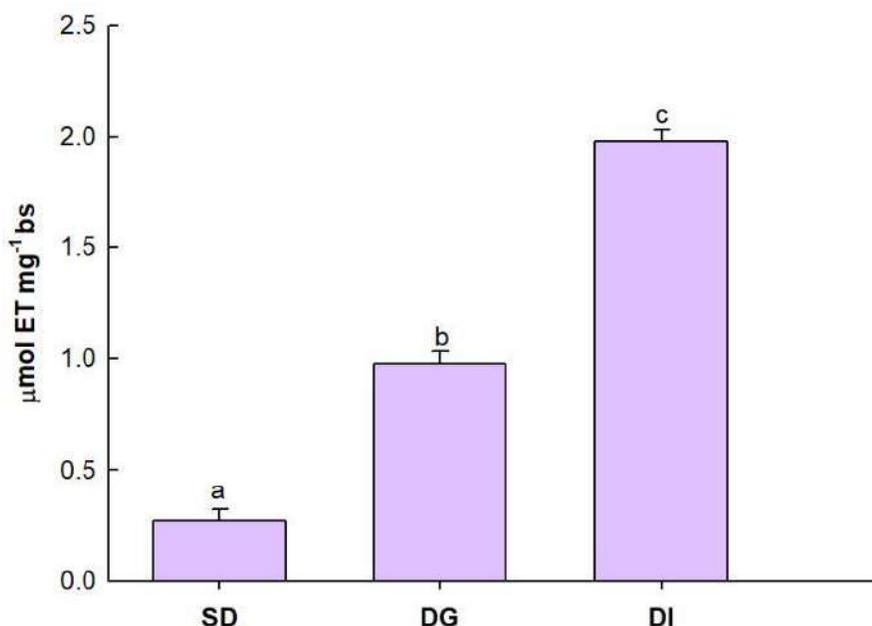


Figura 1. Efecto de la digestión gastrointestinal simulada en las proteínas de amaranto y su actividad antioxidante por DPPH, expresado en Equivalentes de Trolox (ET) y comparando entre el concentrado proteico Sin Digestión (SD), Digestión Gástrica (DG) y Digestión Intestinal (DI). Se muestran los valores promedio (\pm error estándar) obtenidos con ANOVA unifactorial y las letras sobre las barras indican los poshoc por el método de Tukey para alfa de 0.05.

Actividad antioxidante por ORAC

El concentrado de proteína de amaranto y sus digeridos mostraron capacidad antioxidante contra los radicales peroxilo (Figura 2). La capacidad antioxidante de las proteínas de amaranto varió entre 1.57 y 1.78 $\mu\text{mol ET mg}^{-1}$. La mayor actividad antioxidante se produjo en el concentrado proteico, la cual se mantuvo constante a lo largo de la digestión gastrointestinal *in vitro*. Estudios previos en proteínas de *A. cruentus* indican que la digestión *in vitro* mejora la capacidad antioxidante, con valores que aumentaron de 0.082 a 0.129 $\mu\text{mol ET mg}^{-1}$ (Pazinatto *et al.*, 2013), aunque estos valores son inferiores a los encontrados en nuestro estudio. Asimismo, en proteínas de *A. caudatus* la mayor capacidad antioxidante se presentó después de la digestión intestinal simulada durante 60 minutos, seguida de la digestión intestinal durante 120 minutos (Vilcacundo *et al.*, 2019). La capacidad antioxidante de los digeridos está relacionada con las características estructurales, tamaño y la composición de aminoácidos de los péptidos liberados después de la digestión *in vitro*. Además, es importante considerar que la variación en la actividad antioxidante puede deberse a múltiples factores como las diferentes especies de amaranto, las condiciones de cultivo, el método de extracción de las proteínas, las condiciones bajo las cuales se obtuvieron los hidrolizados o la digestión gastrointestinal *in vitro* entre otros (Peña-Ramos y Xiong, 2004).

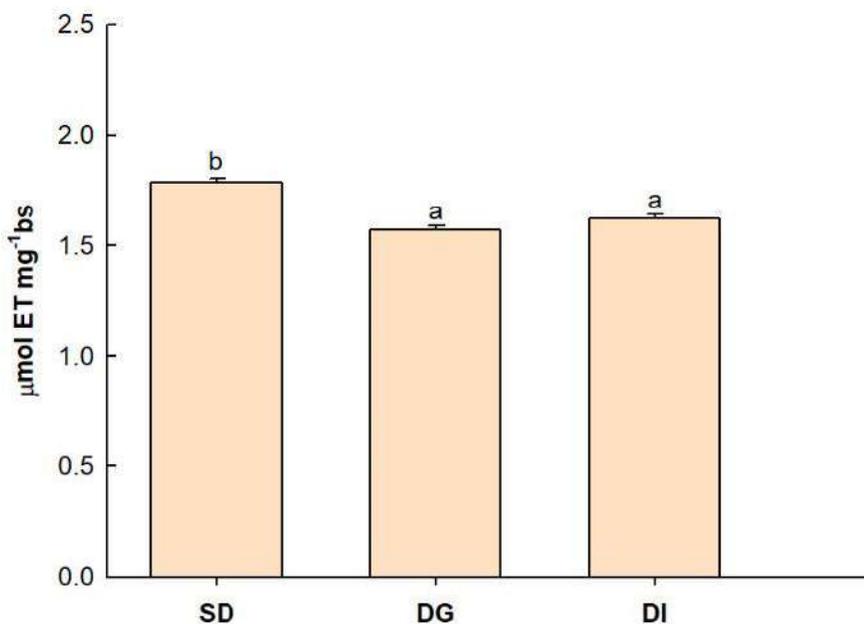


Figura 2. Efecto de la digestión gastrointestinal simulada en las proteínas de amaranto y su actividad antioxidante por ORAC, expresado en Equivalentes de Trolox (ET) y comparando entre el concentrado proteico Sin Digestión (SD), Digestión Gástrica (DG) y Digestión Intestinal (DI). Se muestran los valores promedio (\pm error estándar) obtenidos con ANOVA unifactorial y las letras sobre las barras indican los poshoc por el método de Tukey para alfa de 0.05.

Actividad antioxidante celular

Se utilizaron las líneas celulares de adenocarcinoma colorrectal humano (Caco-2) y células de hepatocarcinoma humano (HepG2) para evaluar la citotoxicidad de proteínas y digeridos de amaranto en diferentes concentraciones ($0.125-1 \text{ mg mL}^{-1}$). En donde se obtuvieron valores mayores al 80 % de viabilidad celular, lo que indica que las muestras a estas dosis no son tóxicas para las células. Por lo que, se evaluó la actividad antioxidante celular en las células intestinales y hepáticas con una concentración de $0.250 \text{ mg proteína mL}^{-1}$.

La digestión *in vitro* de las proteínas de amaranto aumentó la actividad antioxidante en las células Caco-2, siendo las fracciones gástricas $> 5 \text{ kDa}$ las que mostraron la mayor actividad antioxidante ($133.94\% \pm 4.84$). Mientras que el concentrado proteico sin digestión presentó la menor actividad antioxidante ($54.70\% \pm 4.84$) (Figura 3A). Resultados similares se observaron en péptidos y fracciones obtenidas después de la digestión *in vitro* de proteínas de *A. mantegazzianus*, donde se redujo el estrés oxidativo intracelular causado por las ROS. Posiblemente debido al uso de compuestos de bajo peso molecular que actúan como donadores de electrones o que favorecen la actividad de enzimas antioxidantes endógenas (García y Tironi, 2021).

En las células hepáticas se encontró que las fracciones intestinales $< 5 \text{ kDa}$ ($165.36 \pm 5.42 \%$) y en las fracciones gástricas $< 5 \text{ kDa}$, presentaron el mayor porcentaje de actividad antioxidante, mientras

que el CPA registró la menor actividad antioxidante (Figura 3B). Estudios previos han demostrado que las proteínas de avena tras la hidrólisis enzimática con alcalasa producen péptidos con actividad antioxidante y efecto citoprotector en células HepG2, posiblemente debido a la capacidad de reducir hidroperóxidos o de convertir el oxígeno oxidado en peróxido de hidrógeno, el cual, es menos reactivo y puede ser reducido a agua por enzimas endógenas (Du *et al.*, 2016). Resultados similares se observaron en un estudio realizado por Liu *et al.* (2018), quienes registraron que los péptidos con bajo peso molecular obtenidos de aislados de proteínas de *Dendrobium aphyllum* fueron capaces de cruzar la membrana celular y reducir los niveles de ROS intracelular al inducir el sistema intracelular de enzimas antioxidantes. Además, de que a nivel hepático estos péptidos pueden regular y/o restaurar la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas, las cuales afectan el estrés oxidativo al aumentar la síntesis de glutatión y reducir la producción intracelular de especies reactivas de oxígeno (Liu *et al.*, 2018). Dicho efecto se asoció principalmente a la composición y las secuencias de aminoácidos específicos, así como a la presencia de los aminoácidos aromáticos Tyr y Trp ubicados al final de la secuencia peptídica.

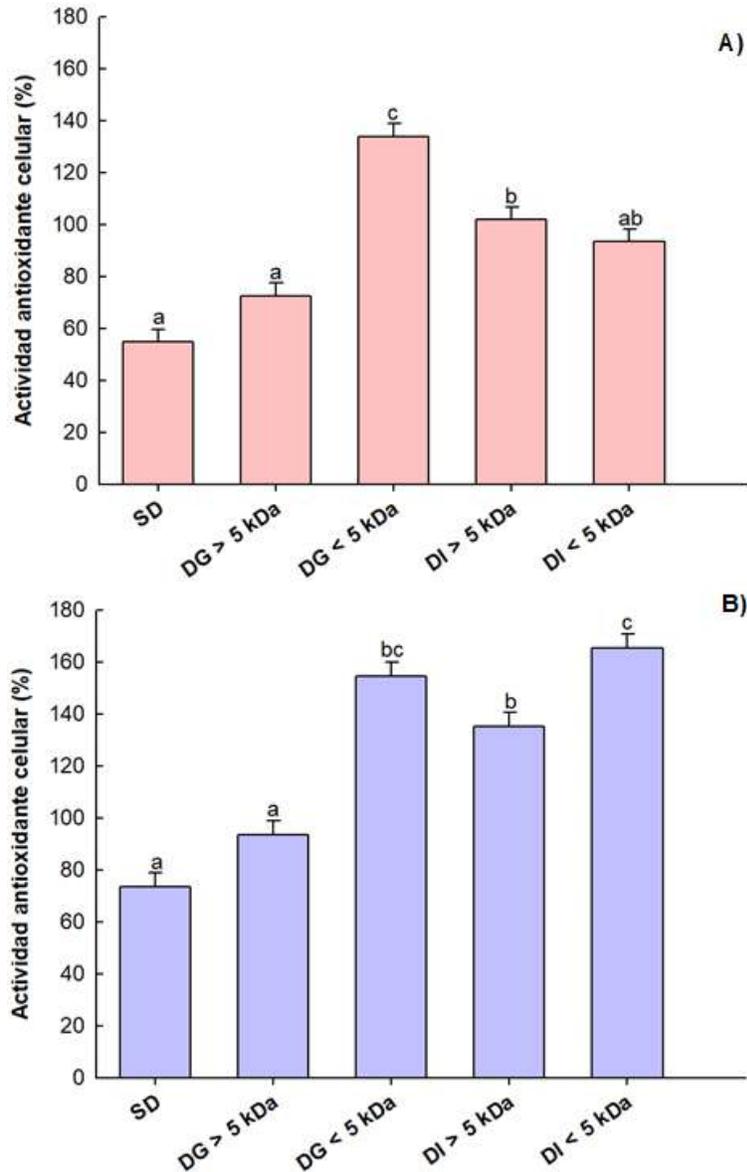


Figura 3. Efecto de los digeridos gástricos e intestinales de proteínas de amaranto con peso molecular > 5 kDa y < 5 kDa sobre la actividad antioxidante (%) en células de cáncer de colon (Caco-2) y células de hepatocarcinoma humano (HepG2). Comparativa entre concentrado proteico Sin Digestión (SD), fracciones digestión gástrica > 5 kDa (DG > 5 kDa), fracciones digestión gástrica < 5 kDa (DG < 5 kDa), fracciones digestión intestinal > 5 kDa (DI > 5 kDa) y fracciones digestión intestinal < 5 kDa (DI < 5 kDa). Se muestran los valores promedio (\pm error estándar) obtenidos con ANOVA unifactorial y las letras sobre las barras indican los poshoc para alfa de 0.05 entre los digeridos a la misma concentración de proteína (0.250 mg/mL^{-1}).

CONCLUSIONES

La digestión gastrointestinal *in vitro* de proteínas de amaranto favorece la liberación de péptidos bioactivos capaces de proteger a las células Caco-2 y HepG2 del daño oxidativo mediante la eliminación de ROS. Además, hay efecto citoprotector al reducir los niveles de especies reactivas de oxígeno intracelular y al aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas. Por lo tanto, los péptidos bioactivos de amaranto podrían contribuir a la prevención y el manejo del estrés oxidativo en estas células. No obstante, se requieren más estudios para comprender mejor los mecanismos subyacentes y explorar su eficacia en sistemas biológicos más complejos.

BIBLIOGRAFÍA

1. E.G. Aguilar, G.J. Albarracín, M.A. Uñates, H.D. Piola, J.M. Camiña, N.L. Escudero, "Evaluation of the nutritional quality of the grain protein of new amaranths varieties", *Plant Food for Human Nutrition*, Vol. 70, 1, 2014, pp. 21-6.
2. U. Asmat, K. Abad, K. Ismail, "Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review", *Saudi Pharmaceutical Journal*, Vol. 24,5, 2016, pp. 547-553.
3. A. Ayala-Niño, G.M. Rodríguez-Serrano, L.G. González-Olivares, E. Contreras-López, P. Regal-López, A. Cepeda-Saez, "Sequence Identification of Bioactive Peptides from Amaranth Seed Proteins (*Amaranthus hypochondriacus* spp.)", *Molecules*, Vol. 24, 17, 2019, pp. 3033.
4. W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, "Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity", *Lebensmittel.Wissenschaft & Technologie*, Vol. 28:1,1995, pp. 25-30.
5. A. Brodkorb, L. Egger, M. Alming, P. Alvito, R. Assunção, S. Ballance, T. Bohn, C. Bourlieu-Lacanal, R. Boutrou, F. Carrière, A. Clemente, M. Corredig, D. Dupont, C. Dufour, C. Edwards, M. Golding, S. Karakaya, B. Kirkhuis, S. Le Feunteun, U. Lesmes, A. Macierzanka, A. Mackie, C. Martins, S. Marze, D. McClements, O. Ménard, M. Minekus, R. Portmann, C. Santos, I. Souchon, P. Singh, G. Vegarud, M. Wickham, W. Weitschies, I. Recio, "INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion", *Nature Protocols*, Vol.14, 4, 2019, pp. 991-1014.
6. R. Chirinos, R. Pedreschiz, M. Velasquez-Sanchez, A. Aguilar-Galvez, D. Campos, "*In vitro* antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of enzymatically hydrolyzed quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*) proteins", *Cereal Chemistry*, Vol. 97, 2020, pp. 949-957.
7. Y. Du, R. Esfandi, W.G. Willmore, A. Tsopmo, "Antioxidant activity of oat proteins derived peptides in stressed hepatic HepG2 cells", *Antioxidants*, Vol. 5,4, 2016, pp. 39.
8. E. Espitia-Rangel, E.C. Mapes-Sánchez., C.A. Núñez-Colín, D. Escobedo-López, "Distribución geográfica de las especies cultivadas de *Amaranthus* y de sus parientes silvestres en México", *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol.1,3, 2010, pp. 421-431.
9. S. García, V. Tironi, "Intracellular antioxidant activity and intestinal absorption of amaranth peptides released using simulated gastrointestinal digestion with Caco-2 TC7 cells", *Food Bioscience*, Vol. 41,2021 pp. 101086.
10. E.P. Gutiérrez-Grijalva, M. Antunes-Ricardo, B.A. Acosta-Estrada, J.A. Gutiérrez-Urbe, J.B. Heredia, "Cellular antioxidant activity and *in vitro* inhibition of α -glucosidase, α -amylase and pancreatic lipase of oregano polyphenols under simulated gastrointestinal digestion", *Food Research International*, Vol. 116, 2019, pp. 676-686.
11. B. Hernández-Ledesma, A. Dávalos, B. Bartolomé, L. Amigo, "Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactoalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52, 2005, pp. 588-593.
12. C.C. Hsieh, S. Fernández-Tomé, B. Hernández-Ledesma "Functionality of soybean compounds in oxidative stress-related disorders" (In *Gastrointestinal Tissue Academic Press*.2017), Chapter 27, pp. 339-353.

13. P. Indiano-Romacho, S. Fernández-Tomé, L. Amigo, B. Hernández-Ledesma, "Multifunctionality of lunasin and peptides released during its simulated gastrointestinal digestion", *Food Research International*, Vol. 125, 2019, pp.1085-13.
14. D.C. Joshi, S. Sood, R. Hosahatti, L. Kant, A. Pattanayak, A. Kumar, D. Yasav, M.G. Stettters, "From zero to hero: the past, present and future of grain amaranth breeding", *Theoretical and Applied Genetics*, Vol. 131,9,2018, pp. 1807-1823.
15. H. Liu, H. Ye, C. Sun, H. Xi, J. Ma, F. Lai, H. Wu, "Antioxidant activity in HepG2 cells, immunomodulatory effects in RAW 264.7 cells and absorption characteristics in Caco-2 cells of the peptide fraction isolated from *Dendrobium aphyllum*", *International Journal of Food Science and Technology*, Vol. 53, 2018, pp. 2027-2036.
16. E. Maldonado-Cervantes, J.A. Huerta-Campo, G.M. Montero-Morán, A. Barrera-Pacheco, E. Espitia-Rangel, A.P. Barbara de la Rosa, "Characterization of *Amaranthus cruentus* L. seed proteins by 2-DE and LC/MSeMS: Identification and cloning of a novel late embryogenesis-abundant protein", *Journal of Cereal Science*, Vol. 60, 1,2014, pp. 172-178.
17. C. Martínez-Villaluenga, E. Peñas, B. Hernández-Ledesma, "Pseudocereal grains: Nutritional value, health benefits and current applications for the development of gluten-free foods", *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 137, 2020, pp. 111-178.
18. S. Maqsood, S. Benjakul, "Synergistic effect of tannic acid and modified atmospheric packaging on the prevention of lipid oxidation and quality losses of refrigerated striped catfish slices", *Food Chemistry*, Vol. 121,1,2010, pp. 29-38.
19. G. Moscoso-Mújica, A. Zavaleta, A. Mújica, M. Santos, R. Calixto, R, "Fractionation and electrophoretic characterization of (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) kanihua seed proteins", *Revista Chilena de Nutrición*, Vol. 44, 2, 2017, pp. 144-152.
20. M.C. Orsini-Delgado, V.A. Tironi, M.C. Añón, C, "Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion", *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 44,8, 2011, pp. 1752-1760.
21. M.C. Orsini-Delgado, A. Nardo, M. Pavlovic, H. Rogniaux, M.C. Añón, V. Tironi, "Identification and characterization of antioxidant peptides obtained by gastrointestinal digestion of amaranth proteins", *Food Chemistry*, Vol.197,2016, pp. 1160-1167.
22. S. Pandey, A. Ganeshpurkar, D. Bansal, N. Dubey, "Hematopoietic effect of *Amaranthus cruentus* extract on phenylhydrazine-Induced toxicity in Rats", *Journal of Dietary Supplements*, Vol.13,6, 2016, pp. 607-15.
23. O. Paredes-López, M.L. Cervantes-Caja, M. Vigna-Pérez, T. Hernández-Pérez, "Berries Improving human health a healthy aging and promoting quality life-A review", *Plan Foods Human Nutrition*, Vol. 65, 3, 2010, pp. 299-308.
24. C. Pazinato, L. Malta, G.M. Pastore, F.M. Netto, "Antioxidant capacity of amaranth products: effects of thermal and enzymatic treatments", *Food Science and Technology*, Vol. 33,3, 2013, pp. 485-493.
25. A. Quiroga, D. Barrio, M.C. Añón, "Amaranth lectin presents potential antitumor properties", *Food Science and Technology*, Vol. 60,1, 2015, pp. 478-485.
26. A. Rastogi, S. Shukla, "Amaranth: A new millennium crop of nutraceutical values", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 53,2, 2013), pp. 109-125.
27. V. Sánchez-Valle, N. Méndez-Sánchez. "Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad", *Revista de Investigación Médica Sur*, Vol. 20,3, 2013, pp.161-168.
28. J. Soriano-Santos, H. Escalona-Buendía, "Angiotensin I-Converting Enzyme inhibitory and antioxidant activities and surfactant properties of protein hydrolysates as obtained of *Amaranthus hypochondriacus* L. grain", *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 52,4, 2015, pp. 2073-2082.
29. P. Venskutonis, P. Kraujalis, "Nutricional components of Amaranth seeds and vegetables: A Review on composition, properties, and uses", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 12,4,2013, pp. 381-412.
30. R. Vilcacundo, C. Martínez-Villaluenga, B. Miralles, B. Hernández-Ledesma, B, "Release of multifunctional peptides from kiwicha (*Amaranthus caudatus*) protein under *in vitro* gastrointestinal digestion", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 99, 2019, pp.1225-1232.

31. Z. Wang, X. Zhang, "Isolation and identification of anti-proliferative peptides from *Spirulina platensis* using three-step hydrolysis", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 97,3, 2016, pp. 918-922.
32. T.B. Zou, T.P. He, H.B. Li, H.W. Tang, E.Q. Xia, "The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins", *Molecules*, Vol. 21,1, 2016, pp. 72.
33. X. Zhang, J. Shi, Y. Fu, T. Zhang, L. Jiang, X. Sui, "Structural, nutritional, and functional properties of amaranth protein and its application in the food industry: A review". *Sustainable Food Proteins*, Vol.1, 2023, pp. 45–55.

EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN EN LA CALIDAD DE BALICO ANUAL

José Andrés Hernández Arroyo^{1*}, Ixchel Abby Ortiz Sánchez², Cynthia Adriana Nava Berumen², Oscar Gilberto Alaniz Villanueva², Sonia Valdez Ortega², Erika Cecilia Gamero Posada²

¹Estudiante de Maestría en Ingeniería TecNM-ITD-ITVG, ²Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Carretera Durango – México km 22.5. Villa Montemorelos, Dgo., México. C. P. 34371
andresarroyo9803@gmail.com

RESUMEN

La fuente más económica de alimentación para los rumiantes se deriva de las praderas, en donde se busca seleccionar forrajes de alta calidad y un alto valor nutricional. En Durango ha resurgido el interés por la evaluación de las especies de pasto, con alta productividad y alta calidad forrajera. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de una variedad de Ballico Anual (*Lolium multiflorum*) y el efecto que tienen sobre ella, la utilización de distintos fertilizantes orgánicos. Se sembró la variedad Oregón de ballico anual en el Rancho La Purísima en el poblado Gabino Santillán, Dgo. La siembra se realizó al boleto en cinco franjas de 10 x 200 m (2000 m²). Se evaluaron cinco tratamientos de fertilización, T1 (Testigo), T2 (Químico), T3 (Té de estiércol), T4 (Magro) y T5 (NB Soil). Se realizaron cortes a los 92, 150 y 217 días después de la siembra (DDS) y en cada uno se evaluó la calidad relativa del forraje (CRF, %), valor relativo del forraje (VRF, %) y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS %). Se realizó un diseño en bloques al azar con arreglo factorial con cinco repeticiones, la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). No se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, mientras que entre cortes si hubo diferencias estadísticas para las variables evaluadas, el porcentaje de DIVMS fue alta a los 92 y 150 DDS (66.47 y 63.19 % respectivamente) y baja a los 217 DDS (51.70 %). A los 92 DDS el VRF fue mayor (142.35), esta variable disminuyó en a los 150 y 217 DDS (104.2 y 106.95 % respectivamente). La CRF presentó el mismo comportamiento siendo mayor a los 92 DDS (139.60 %) y menor a los 150 y 217 DDS (105.92 y 107.8 % respectivamente). Por lo anterior los tratamientos orgánicos empleados en esta investigación pueden ser una alternativa económica y sustentable para su uso en la producción de alimento para ganado bovino, debido a que estas variables de calidad no se afectan negativamente con la aplicación de estos fertilizantes orgánicos comparados con el fertilizante químico.

INTRODUCCIÓN

En la alimentación del ganado bovino se debe tratar de cumplir con un propósito doble: cubrir los requerimientos de los animales al menor costo posible. Los forrajes bien manejados son un alimento completo para las vacas y permiten una buena producción de leche y carne (Moreno & Molina, 2007). En Durango, México, especies y variedades de pastos con productividad y calidad de forraje mayores a los pastos en uso actual son necesarias para satisfacer la demanda por forraje señalada en el inventario ganadero estatal, especialmente en la época seca del año (invierno a inicio del verano) (Nava et al., 2018). La problemática que se presenta es que para tener un alto rendimiento, se requiere el uso excesivo de fertilizantes químicos, debido a que la producción agrícola en los sistemas convencionales utiliza primordialmente fertilizantes químicos para proporcionar a las plantas los nutrimentos necesarios. Sin embargo, tal práctica tiene efectos colaterales negativos de contaminación y degradación del suelo, los cuales se hacen más graves con la excesiva mecanización de la agricultura. Derivado de ello, en la actualidad es necesario encontrar alternativas más sustentables para fertilizar los cultivos (García et al., 2010) como es el caso de los fertilizantes

orgánicos. Existen diferentes tipos como el fertilizante magro y Té de estiércol, el primero se obtiene por medio de una fermentación aerobia o anaerobia, usando estiércol bovino, agua, leche (puede sustituirse con suero de leche), minerales provenientes de materiales calcáreos (o ceniza) y melaza (Manríquez, 2015); y el segundo es una preparación donde se convierte el estiércol sólido en un abono líquido extrayendo los nutrientes en el agua para hacerlos disponibles para las plantas (Quino, 2006). Así mismo es importante buscar alternativas forrajeras en la época seca del año, en el que la producción se detiene y el animal pierde peso. En Durango, las variedades de pasto ballico anual son opciones para producir forraje de calidad durante la época seca del año (Nava et al., 2018), una variable poco común y estudiada es la variedad Oregón, la cual se evaluó en este estudio para conocer su valor nutrimental y adaptabilidad dentro del estado. El uso de fertilizantes orgánicos en pastos ha mostrado efectos benéficos en la producción de forraje (Muinga et al., 2007). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización en la calidad de Ballico Anual var. Oregón, para conocer sus cualidades nutrimentales, en comparación a los pastos utilizados actualmente y mediante dicho estudio, aplicar distintos tipos de fertilizantes que nos permita cubrir con la demanda existente del forraje, especialmente en la época seca del año de manera ecológica y sustentable, si es que estas tienen un impacto similar o mejor a los fertilizantes químicos.

TEORÍA

Pastizales en Durango, México.

El estado de Durango cuenta con una superficie de 12, 320, 000 has, de las cuales el 53%, posee un uso de suelo de agostadero, es decir, 6, 656, 089 de has. Mientras que para la zona de los Valles y principalmente los municipios de Durango, Canatlán, Panuco de Coronado, Guadalupe Victoria, Nombre de Dios, Vicente Guerrero, Poanas y Súchil cuentan con una superficie de 802,924 has de pastizales dedicados a la ganadería extensiva, representando un 16.8% de la superficie del estado (INEGI, 2017). Los recursos naturales se han manejado de acuerdo a intereses particulares, sin darle importancia a la conservación y/o al mejoramiento de los mismos. En el estado se ha retomado la evaluación de las especies de pasto, con productividad forrajera ($>27 \text{ t ha}^{-1}$ de forraje verde por corte; INFOSIAP, 2022) y calidad forrajera altas (proteína cruda $>12\%$, Fibra detergente neutro (FDN= 55% y digestibilidad $>50\%$) (Ball, et al., 2001). En el caso de ballico anual (*Lolium multiflorum*), ballico perenne (*Lolium perenne*) y bromo (*Bromus willdenowii*) de la variedad Matua principalmente (Jiménez et al., 2014). Algunas variedades de ballico anual (*Lolium multiflorum*), la mezcla comercial Green Perenne (*Lolium perenne*) y la variedad Matua del pasto Bromo (B. Willdenowii) son opciones para producir forraje de alta calidad en la época seca del año en Durango. La mezcla Green Perenne y el pasto bromo variedad Matua son una alternativa para poder obtener forraje verde, con productividad baja en los primeros cortes y alta en los últimos en contraste con la proteína, en los primeros cortes obtuvo valores altos de proteína la cual fue disminuyendo en los cortes subsecuentes (33 % y 17 % respectivamente) (Nava et al., 2018).

Importancia de los forrajes.

Las especies forrajeras para su explotación, deben ser consideradas como un cultivo más y deben ser manejadas como tales, ya que al igual que todas las plantas, su crecimiento y desarrollo están determinados por su genética y por las condiciones externas a las cuales están sometidos. Por ello, para una producción eficiente de los pastizales, éstos deben manejarse tomando en cuenta el sistema suelo-planta-clima donde se está desarrollando esa planta, sistema en el cual la planta no crece en forma aislada si no que depende de la interrelación de todos los factores que intervienen en dicho sistema. La mayor fuente de alimentación de los rumiantes es la pastura y los forrajes, los

cuales son plantas verdes que ecológicamente son un productor primario (por ejemplo, la captura de luz solar y carbono para producir biomasa. Los forrajes representan la clase predominante de alimentación animal, varían significativamente con respecto a los parámetros de calidad, tales como la digestibilidad de la materia seca, proteína cruda y palatabilidad (Del Curto et al., 1990).

Composición química del forraje.

Para considerar la inclusión de forrajes en dietas de rumiantes, es necesario conocer el valor nutricional y la calidad de los forrajes, el valor nutricional puede expresarse en términos de su composición química (concentración de nutrientes); y la calidad estará determinada por la digestibilidad, la naturaleza de los productos y la cinética de digestión que se espera que sea expresada en consumo efectivo por los animales (Naranjo et al., 2005).

La composición química de los alimentos y forrajes se ve influenciada por factores tales como el tipo de cultivo, variedades, fertilizantes, etapa de cosecha, el medio ambiente. También afecta la calidad nutritiva, los altos contenidos de pared celular y el bajo contenido de carbohidratos solubles (Barahona y Sánchez, 2005; Leng, 1990; Norton y Poppi, 1995) y afecta la eficiencia con que los animales extraen sus nutrientes durante la digestión (Sanon et al., 2008). El valor nutritivo de los alimentos está determinado por la biodisponibilidad de nutrientes y la dinámica de los procesos de solubilización e hidrólisis en el tracto gastrointestinal (Bruni y Chilbroste, 2001).

Asimismo, la calidad del forraje debe incluir la valoración acumulada del contenido de proteína, digestibilidad y consumo voluntario de materia seca por parte del animal. Ante esto, se tiene como recomendación evaluar el valor relativo del forraje (VRF) y la calidad relativa del forraje (CRF), los cuales son índices utilizados en el pronóstico y clasificación de la calidad nutricional de los forrajes mediante el análisis combinado del consumo animal esperado y la digestibilidad de la materia seca (Moore & Undersander, 2002). Con base en los niveles obtenidos para estas variables, se considera que valores iguales y mayores a 100 denotan buena calidad nutritiva de los forrajes (Undersander, 2003).

Fertilización de los cultivos.

La aplicación de fertilizantes puede proveer los nutrientes necesarios para las plantas con el fin de obtener altos rendimientos. Su uso puede aumentar la productividad, teniendo en cuenta que la frecuencia, la dosis y la época de aplicación deben ser adecuadas para evitar sobrecostos, daños a la planta y problemas ambientales (FAO, 2002). La fertilización convencional demanda una gran inversión económica y puede ocasionar efectos ambientales negativos en los sistemas productivos. Es por ello necesario el uso de fertilizantes orgánicos como una alternativa para suplir los requerimientos nutricionales de los cultivos, igualar la producción de forraje que se obtiene con los fertilizantes inorgánicos y propiciar características agronómicas de buena calidad (Tamayo et al., 2007). Existen diferentes fertilizantes orgánicos utilizados en el Estado como es el caso del fertilizante magro, el cual es biofermento enriquecido, que se obtiene por medio de una fermentación aerobia o anaerobia, usando estiércol bovino, agua, leche (puede sustituirse con suero de leche), minerales provenientes de materiales calcáreos (o ceniza) y melaza (Manríquez, 2015). El Té de estiércol es una preparación donde se convierte el estiércol sólido en un abono líquido extrayendo los nutrientes en el agua para hacerlos disponibles para las plantas (Quino, 2006).

PARTE EXPERIMENTAL

Área de estudio.

El presente trabajo se llevó a cabo en el Rancho La Purísima en el poblado Gabino Santillán, Dgo. ubicado en el km 9.5 carretera Durango-Mezquital y en el laboratorio de Agroquímica del Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, ubicado en el Km 22.5 carretera Federal 45 Durango-México.

Producción de fertilizantes orgánicos.

Para la producción del biofertilizante súper magro, se siguió la metodología descrita por SADER-INIFAP (2021a), adicionando inóculos de *Azospirillum* spp. y *Trichoderma* spp. con una concentración mínima de 1×10^6 UFC.mL⁻¹ y 1×10^8 UFC.mL⁻¹ respectivamente, ambos nativos del Valle del Guadiana, aislados y reproducidos en el laboratorio de biotecnología vegetal del referido Instituto. El Té de estiércol se preparó con estiércol de bovino, bajo la metodología de SADER-INIFAP (2021b); la mezcla obtenida se inoculó con *Azotobacter* spp. (1×10^5 UFC.mL⁻¹), *Azospirillum brasilenses* (1×10^5 UFC.mL⁻¹) y *Pseudomonas fluorescens* (1×10^5 UFC.mL⁻¹).

Siembra del cultivo.

Para la siembra se utilizó la variedad Oregón de la familia del Ballico Anual (*Lolium multiflorum*). Esta se realizó al boleto con una sembradora de cono en 5 franjas de 10 x 200 m (2000 m²), en donde la semilla fue aventada al suelo y posteriormente se dio un paso de rastra para cubrirla y al finalizar se aplicó un riego para favorecer la germinación de la semilla.

Tratamientos y diseño experimental.

Los tratamientos de aplicación de fertilizantes se muestran en el Cuadro 1. Se realizó un diseño en bloques al azar con arreglo factorial con cinco repeticiones. En cada corte se evaluó la calidad relativa del forraje (CRF, %), valor relativo del forraje (VRF, %) y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS, %).

Cuadro 1. Tratamientos de fertilización.

No.	Tratamiento	Descripción	Dosis
T1	Testigo	-----	N/A
T2	NB Soil®	Fertilizante orgánico comercial.	20%*
T3	Té de estiércol	Fertilizante orgánico.	50%*
T4	Biofertilizante Magro	Fertilizante orgánico.	50%*
T5	Bayfolan Forte®	Fertilizante químico comercial.	3 L/ Ha

*Contenido en porcentaje por cada litro de agua utilizado.

Obtención de muestras.

La aplicación de tratamientos se derivó en tres repeticiones. Los cortes se realizaron a los 92, 150 y 217 días después de la siembra (DDS). Las muestras se obtuvieron lanzando al azar una caja metálica de 25 cm x 25 cm, cortando el forraje localizado dentro de dicha caja.

Digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS, %).

La DIVMS se determinó, por incubación de las muestras, durante 48 h a $39.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$, con líquido ruminal, y saliva artificial, en un incubador DaisyII (Ankom Technology Corp., Macedon, Ny) siguiendo la técnica sugerida por el fabricante (ANKOM, 2011).

Valor relativo del forraje (VRF, %) y calidad relativa del forraje (CRF, %).

El VRF y la CRF se calcularon a partir de las siguientes ecuaciones:

Valor relativo del forraje:

$$VFR (\%) = \frac{(CMS)(MSD)}{1.29}$$

Donde:

$$CMS = \frac{120}{\%FDN}$$

$$MSD = 88.9 - [(0.779)(\%FDA)]$$

Calidad relativa del forraje:

$$CRF (\%) = \frac{(CMS)(NDT)}{1.23}$$

Donde:

$$CMS = \frac{120}{\%FDN}$$

$$NDT = MOD$$

$$MOD = (MO)(DIVMO)$$

CMS= consumo de materia seca (% del peso vivo animal),

MSD= materia seca digestible,

*FDN= fibra en detergente neutro,

*FDA= fibra en detergente ácido,

NDT= nutrientes digestibles totales,

MOD= materia orgánica digestible,

MO= materia orgánica y

DIVMO= digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica.

*Estos valores fueron determinados por el método de ANKOM, 2005.

Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA, $p \leq 0.05$). Se ejecutó la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). El análisis de varianza y la comparación de medias se obtuvieron con el programa de cómputo InfoStat®.

RESULTADOS

El análisis de varianza de los datos obtenidos de la evaluación del efecto de los tratamientos de fertilización sobre la calidad del cultivo de Ballico Anual no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$). En el Cuadro 2 se muestra la comparación de medias, en los tratamientos no se encontraron diferencias estadísticas entre las variables evaluadas, sin embargo, existieron diferencias estadísticas entre cortes. El porcentaje en promedio de DIVMS fue alta a los 92 y 150 DDS (66.47 y 63.19 % respectivamente) y baja a los 217 DDS (51.70 %), cuando la planta tenía mayor edad. En el caso del VRF fue mayor a los 92 DDS (142.35%), esta variable disminuyó en a los 150 y 217 DDS (104.2% y 106.95% respectivamente). La CRF presentó el mismo comportamiento siendo mayor a los 92 DDS (139.60%) y menor a los 150 y 217 DDS (105.92% y 107.8% respectivamente). Tanto para el VRF como para la CRF se presenta un ligero rebrote en el tercer corte.

Nava et al. (2017) evaluaron las mismas variables en tres distintas variedades de sorgo observando su comportamiento en cuatros sitios experimentales, en los resultados obtenidos en un solo corte, se encontraron valores de DIVMS de 64.0% a 79.6%, mientras que para CRF Y VRF de 84% y 78.4% a 135% y 112.2%, respectivamente, realizando la comparación con el primer corte, se obtienen valores similares e inclusive más altos con la utilización de la fertilización orgánica.

Tratamiento	GL	% DIVMS	% VRF	% CRF
92 DDS				
Testigo	8	66.96 ^a	137.72 ^a	138.10 ^a
NB Soil®	8	58.97 ^a	142.77 ^a	139.39 ^a
Té de estiércol	8	63.21 ^a	127.69 ^a	125.53 ^a
Biofertilizante Magro	8	72.78 ^a	151.77 ^a	147.67 ^a
Bayfolan Forte®	8	70.42 ^a	151.79 ^a	147.30 ^a
PROMEDIO		66.47 ^A	142.35 ^A	139.60 ^A

Cuadro 2. Comparación de medias entre tratamientos de fertilización.

150 DDS				
Testigo	8	63.19 ^a	106.28 ^a	106.81 ^a
NB Soil®	8	62.72 ^a	99.92 ^a	100.30 ^a
Té de estiércol	8	61.45 ^a	101.18 ^a	100.22 ^a
Biofertilizante Magro	8	65.88 ^a	107.85 ^a	113.51 ^a
Bayfolan Forte®	8	62.70 ^a	105.77 ^a	108.76 ^a
PROMEDIO		63.19 ^A	104.20 ^B	105.92 ^B
217 DDS				
Testigo	8	58.94 ^a	115.64 ^a	113.78 ^a
NB Soil®	8	50.44 ^a	104.44 ^a	105.05 ^a
Té de estiércol	8	47.48 ^a	104.69 ^a	107.24 ^a
Biofertilizante Magro	8	49.72 ^a	110.77 ^a	107.29 ^a
Bayfolan Forte®	8	51.95 ^a	99.20 ^a	105.70 ^a
PROMEDIO		51.70 ^B	106.95 ^B	107.81 ^B

*Medias con diferente letra indican diferencia significativa, con base en la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Los tratamientos orgánicos empleados en esta investigación pueden ser una alternativa económica y sustentable para su uso en la producción de alimento para ganado bovino, debido a que se presentan resultados similares entre estas variables de calidad, demostrando que las aplicaciones de estos fertilizantes orgánicos no afectan de manera negativa en la calidad del forraje en comparación con el fertilizante químico.

BIBLIOGRAFÍA

ANKOM. (2005) Acid detergent fiber in feeds. Filter bag technique (ANKOM200). Ankom Technology 2005; http://www.ankom.com/09_procedures/ADF%20Method%20A200.pdf. Macedon, NY, USA: Ankom Technology Corp. (Consulta: mayo de 2022).

ANKOM. (2011). *In vitro* true digestibility using DAISY incubator. Ankom Technology 2005; http://www.digestibility.com/media/documents/IVDMD_0805_D200.pdf. Macedon, NY, USA: Ankom Technology Corp. 2011 (Consulta: mayo de 2022).

Ball, D. M., M. Collins, G. D. Lacefield, N. P. Martin, D. A. Mertens, K. E. Olson, D. H. Putnam, D. J. Undersander, and M. W. Wolf. (2001). Understanding forage quality. American Farm Bureau Federation Publication 1-01, Park Ridge, Il. 17 p.

Barahona, R. y Sánchez S. (2005). Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. *Revista Corpoica*; 6 (1):69-82.

Bruni M. de los A.; P. Chilbroste. (2001). Simulación de la digestión ruminal por el método de la producción de gas. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 9: 43-51.

Del Curto, T., R. C. Cochran, D. L. Harmon, A. A. Beharka, K. A. Jacques, G. Towne, and E. S. Vanzant. (1990). Supplementation of dormant tallgrass-prairie forage: I. Influence of varying supplemental protein and (or) energy levels on forage utilization characteristics of beef steers in confinement. *J. Anim. Sci.* 68:515–531.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2002), Fundamento de la necesidad de fertilizantes (aumento de la producción y aumento del ingreso de los agricultores). En: Los fertilizantes y su uso. 4a. ed. Roma: FAO, IFA, 2002. García H, José Luis, Murillo A, Bernardo, Nieto G, Alejandra, Fortis H, Manuel, Márquez H, Cándido, Castellanos P, Edmundo, Quiñones V, José de Jesús, & Ávila S, Narciso Ysaac. (2010). Avances en investigación y perspectivas del aprovechamiento de los abonos verdes en la agricultura. *Terra Latinoamericana*, 28(4), 391-399. Recuperado en 06 de abril de 2023, http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018757792010000400011&lng=es&tIng=e (Consulta: abril de 2023).

INFOSIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera), (2022). Anuario estadístico de la producción agrícola. [http:// infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp) (Consulta: mayo de 2022).

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), (2017). Anuario estadístico y geográfico de Durango 2017. (Consulta: febrero de 2023).

Jiménez, O., R., R. Rosales S., P. A. Domínguez M., M. V. Montelongo T., y C. A. Nava B. (2014). Rendimiento y calidad de forraje invernal obtenido con diferentes especies de pasto perenne. 1er. Congreso Internacional de Investigación Agropecuaria y Forestal. Edo. Méx. Méx. pp: 779-786.

Manríquez, R. J. (2015). Supermagro: El abono orgánico del futuro. *Revista Innovación Agrícola* 1(1): 24-27.

Muinga, R. W., J. G. Mureithi, H. Juma and H. M. Saha. (2007). The effect of supplementing napier grass or maize stover basal diet with either *Gliricidia*, *Clitoria* or *Mucuna* on manure quantity and quality in jersey cows. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 7: 157-163.

Nava, B. C. A., Rosales, S. R., F. O. Carrete C., R. Jiménez O., P. A. Domínguez M., y Reyes E. (2018). Productividad y calidad de forraje de pastos cultivados durante la época seca en Durango, México. *Agrociencia* 52: 803-816.

Nava B., C. A., R. Rosales S., F. O. Carrete C., R. Jiménez O., P. A. Domínguez M., y Murillo, O., M. (2017). Rendimiento y valor nutricional de tres variedades de sorgo dulce cultivadas en cuatro ambientes de Durango. *SciELO, Rev. mex. De ciencias pecuarias* vol 8n. 2.

Quino, E. (2006). Apuntes de clases de Fertilidad y Nutrición Vegetal. Facultad de Agronomía. UMSA. La Paz-Bolivia. pp.1-7

Leng RA. (1990). Factors affecting the utilization of 'poor-quality' forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr Res Rev*; 3:277–303.

Moreno, O., F. y Molina, R. D. (2007). Manual Técnico. Buenas prácticas agropecuarias (BPA) en la producción de Ganado de doble propósito bajo confinamiento, con caña panelera como parte de la dieta. Corpoica. Medellín, Colombia.

Moore, J.E. and Undersander, D. J. (2002). A proposal for replacing relative feed value with an alternative: Relative forage quality. *Proc Am Forage Grassland Council*. Bloomington, Minnesota, USA;(11):171-175.

Naranjo, J. F., Cuartas, C. A. y Correa, H. J. (2005). Comparación de cuatro modelos matemáticos para la caracterización de la cinética de degradación ruminal de algunos recursos forrajeros. *Livestock Research for Rural Development*; 17 (98).

Norton, B. W. and Poppi, D. P. (1995). Composition and nutritional attributes of pasture legumes. In: D'Mello JPF & Devendra C (eds). *Tropical legumes in animal nutrition*. CAB International. p. 23-45.

SADER-INIFAP (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuaria). (2021). (a) Manuales prácticos para la elaboración de bioinsumos, 3 Supermagro.

SADER-INIFAP, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias. (2021). (b) Manuales prácticos para la elaboración de bioinsumos, 6 Té de composta.

Sanon, H. O., Kabore-Zoungrana, C. and Ledin, I. (2008). Nutritive value and voluntary feed intake by goats of three browse fodder species in the Sahelian zone of West Africa. *Anim. Feed Sci. Technol*. 144:97.

Tamayo, A.; Franco, G.; Hincapié, M. & Rodríguez, J. E. (2007). Abonamiento orgánico del cultivo de la estevia en Colombia. *Suelos Ecuatoriales*. 37 (2):155-159.

Undersander, D.J. (2003). The new relative forage quality index-concept and use. *Univ Wisc Ext*. Madison, WI, US

FÓSFORO Y POTASIO EN AGUA DE COCO PARA CULTIVO *IN VITRO* DE PLANTAS

Yasbet Ríos-Barreto, Libia I. Trejo-Téllez, Gregorio Arellano-Ostoa, Olga Tejeda-Sartorius*

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, 56264.

*E-mail: olgats@colpos.mx

RESUMEN

El agua de coco (AC) es un complemento orgánico muy utilizado en los sistemas de cultivo *in vitro*, adicionado a los medios de cultivo, y ha demostrado tener efectos positivos, ya sea en la germinación de semillas, como en el crecimiento de los explantes. Sin embargo, científicamente la adición de AC al medio es insatisfactoria porque impide la posibilidad de investigar los efectos de sus componentes individuales con cierto grado de precisión. Además, pocas veces se especifican detalles de la manera como se emplea, es decir, si se le da algún tratamiento previo antes de adicionarse al medio, o si se usa esterilizado. El objetivo de este trabajo fue analizar la concentración de P y K en agua de coco esterilizada (ACEst) y filtrada (ACFil). El AC de un lote de cocos del mercado local se mezcló, y la mitad de la mezcla se esterilizó a 121° C por 20 minutos; la otra mitad se purificó con filtros millipore de jeringa de 0.22 µ. Se determinó P y K en un equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma. Los datos se analizaron mediante ANOVA y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$). Los resultados mostraron que la concentración de P fue estadísticamente superior en ACEst, siendo 13% mayor a la concentración en el ACFil. Mientras que el K también fue superior en ACEst por 10% en comparación al de ACFil. Se concluye que la esterilización del agua de coco incrementa la concentración de P y K, y potencialmente puede tener efectos positivos en el crecimiento *in vitro* de plantas.

INTRODUCCIÓN

El endospermo líquido de los frutos de *Cocos nucifera* L., o comúnmente conocido como agua de coco, tiene diversos usos, además del alimenticio, como es su empleo en el cultivo *in vitro* de especies vegetales, y no debe confundirse con la “leche de coco”, la cual se refiere a los productos obtenidos del rallado de endospermo sólido, el cual no es utilizado en las formulaciones del medio de cultivo de plantas (Yong *et al.*, 2009). El agua de coco contiene diversos azúcares, vitaminas, aminoácidos y nutrientes (Yong *et al.*, 2009) fitohormonas (Yong *et al.*, 2013) y compuestos minerales (Prades *et al.*, 2012). Sin embargo, la composición del agua de coco puede variar de acuerdo con la procedencia de los cocos (suelo, clima), fertilización, estado de madurez (Burns *et al.*, 2020). Además, la composición del agua de coco varía con el proceso que se le da, desde su extracción, almacenamiento, proceso y forma de conservación (Naik *et al.*, 2020).

Varios autores reportan los efectos benéficos del agua de coco en los medios de cultivo *in vitro*, como mejora en la germinación de semillas y formación de cuerpos como protocormos (PLBs, por sus siglas en inglés), de *Phalaenopsis* (Shekarriz *et al.*, 2014). Crecimiento óptimo de PLBs, en *Dendrobium* (Winarto y Teixeira da Silva, 2015); incremento en el número de brotes de *Bulbophyllum dhaninivatii* (Kongbangkerd *et al.*, 2017). Inducción floral de *Dendrobium* Madame Thong-In (Sim *et al.*, 2007), y de *Dendrobium* Chao Praya Smile (Hee *et al.*, 2007).

La principal fracción de sólidos solubles en agua de coco son los azúcares, seguido de los minerales, los cuales representan sólo entre el 0.4% y el 1% del volumen del líquido, que contribuyen a sus propiedades isotónicas (Prades *et al.*, 2012). Entre los iones inorgánicos contenidos en el agua de

coco, están fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, sodio, manganeso, zinc, cobre (Prades *et al.*, 2012; Naik *et al.*, 2020). Y se ha reportado que el potasio es el mineral más abundante en el agua de coco (Richter *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2021). A pesar de los otros minerales presentes, como el fósforo, la cantidad de este varía mucho con la edad del coco y el tipo de cultivar (Kumar *et al.*, 2021). Fósforo y potasio son importantes para el crecimiento y la floración de las plantas. Para el cultivo *in vitro*, poca información es proporcionada acerca de la manera de usar el agua de coco para adicionarse al medio, por ejemplo, si pasa por algún proceso de alta temperatura o filtración. Estos datos son importantes para estandarizar su uso y poder obtener resultados más uniformes.

A pesar de las bondades mostradas por el agua de coco en los sistemas de cultivo *in vitro*, se requiere mucha investigación de sus propiedades en relación con la mejora del crecimiento. El objetivo de este trabajo fue analizar la concentración de P y K en agua de coco esterilizada y filtrada.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal. Cocos verdes inmaduros adquiridos en el mercado de Texcoco, provenientes del estado de Guerrero.

Proceso de desinfestación. Lavado de cocos con solución jabonosa y enjuague bajo el chorro de agua de la llave. Posterior al lavado se sumergieron en un recipiente con una solución al 10% de hipoclorito de sodio comercial más 2 gotas de tween 20, durante 30 minutos.

Extracción de agua de coco en la campana de flujo laminar. Los cocos se enjuagaron con agua destilada estéril, se les realizó un orificio y se extrajo el líquido.

Una vez extraído el líquido de los cocos, se realizó una mezcla del total del agua obtenida, la cual se dividió en porciones de 100 mL, las cuales se colocaron en bolsas de plástico y se llevaron a congelación. Para posterior uso en la preparación de medios de cultivo (Figura 1).



Figura 1. Aspecto general de los cocos inmaduros destinados para extracción del agua. A) cocos verdes inmaduros; B) endospermo carnoso y blando.

Tratamientos

El agua de coco obtenida se distribuyó en los tratamientos siguientes:

- Tratamiento 1. Agua de coco esterilizada (ACEst): esterilización a 121 °C por 20 minutos en autoclave.
- Tratamiento 2. Agua de coco filtrada (ACFil): agua de coco filtrada, filtros millipore de jeringa de 0.22 μ .

• *Determinación de fósforo y potasio.* En el material seco se realizó una digestión húmeda con una mezcla de ácido sulfúrico y perclórico (2:1, v: v), de acuerdo con la metodología descrita por Alcántar y Sandoval (1999). Los extractos obtenidos posteriores a la digestión fueron filtrados. En éstos, se determinaron las concentraciones de P y K, empleando un equipo de espectroscopia de emisión óptica de inducción por plasma acoplado. Los resultados fueron expresados en mg o g de elemento (g kg^{-1}) en peso de biomasa seca (PBS).

Se usó un diseño completamente al azar, con 3 repeticiones. Los datos se analizaron mediante un ANOVA y prueba de comparación de medias con prueba de Tukey (0.05%). Los datos se analizaron mediante R software, versión 4.1.0 (R Core Team, 2021).

RESULTADOS

La concentración de fósforo fue significativamente superior en el agua de coco esterilizada (ACEst), con $6.15 \text{ mg } 100 \text{ mg L}^{-1}$, en comparación con el agua de coco filtrada (ACFil), que presentó un promedio de $5.39 \text{ mg } 100 \text{ mg L}^{-1}$ (Figura 1).

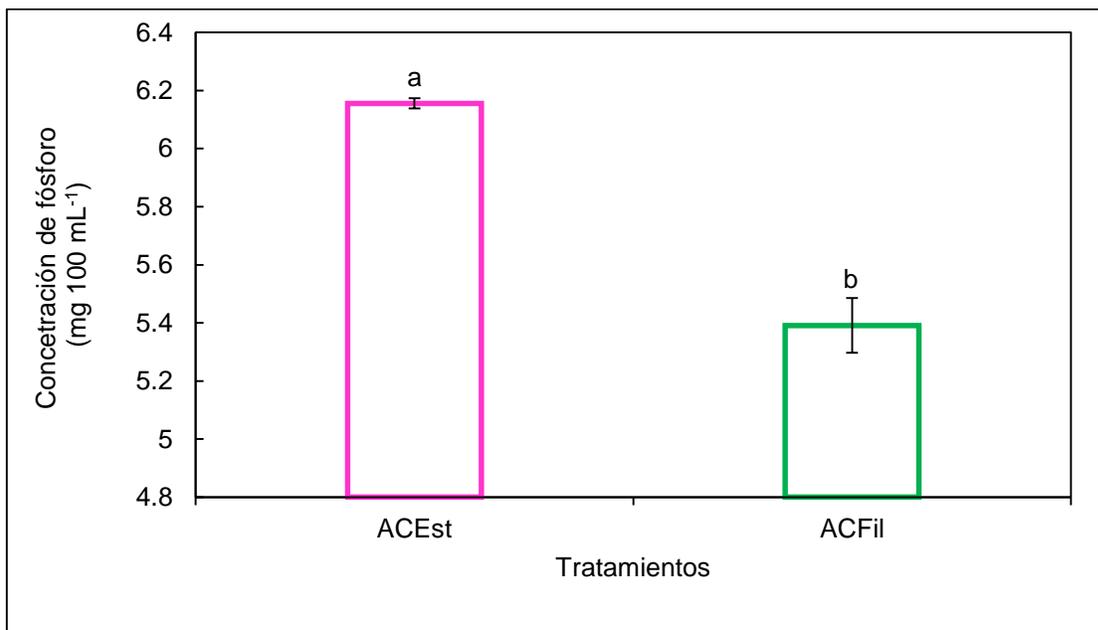


Figura 1. Concentración de fósforo en muestras de agua de coco sometidas a dos tratamientos: agua de coco esterilizada (ACEst) y agua de coco filtrada (ACFil). Barras \pm DE con diferentes letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Los resultados en este trabajo se acercan a los reportados por Santos *et al.* (1996) quienes reportan $4.66 \text{ mg } 100 \text{ mg L}^{-1}$ de fósforo en cocos inmaduros, en donde el análisis provino de agua de coco no esterilizada y conservada a $-30 \text{ }^\circ\text{C}$. Kwitakowski *et al.* (2008) reportan concentraciones de $5.28 \text{ mg } 100 \text{ mg L}^{-1}$, en cocos frescos de 6 meses de maduración. Otros autores reportan concentraciones de fósforo superiores a las que se obtuvieron en el presente trabajo, de entre 9.2, 21, 37 $\text{mg } 100 \text{ mg L}^{-1}$ (Uphade *et al.*, 2008; Richter *et al.*, 2005). Prades *et al.* (2012) reportan una concentración de entre 6 a 21 $\text{mg } 100 \text{ mg L}^{-1}$ en cocos maduros.

Al igual que en P, la concentración de K fue estadísticamente superior en el ACEst, con un promedio de $180.32 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$, en comparación con la concentración en el ACFil ($163.18 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$), (Figura 2). Resultados similares presentan autores como Richter *et al.*, 2005, quienes indican que obtuvieron $164 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$. Otros autores reportan concentraciones superiores, Santoso *et al.* (1996) reportan $203.7 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ de potasio, en cocos inmaduros. Por su parte, Kwitakowski *et al.* (2008) reportan $252.6 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ de potasio en cocos de 6 meses de maduración. Asimismo, Prades *et al.* (2012) reportan concentraciones aún mayores, de entre 164 hasta $356 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ de este mineral, pero en cocos maduros.

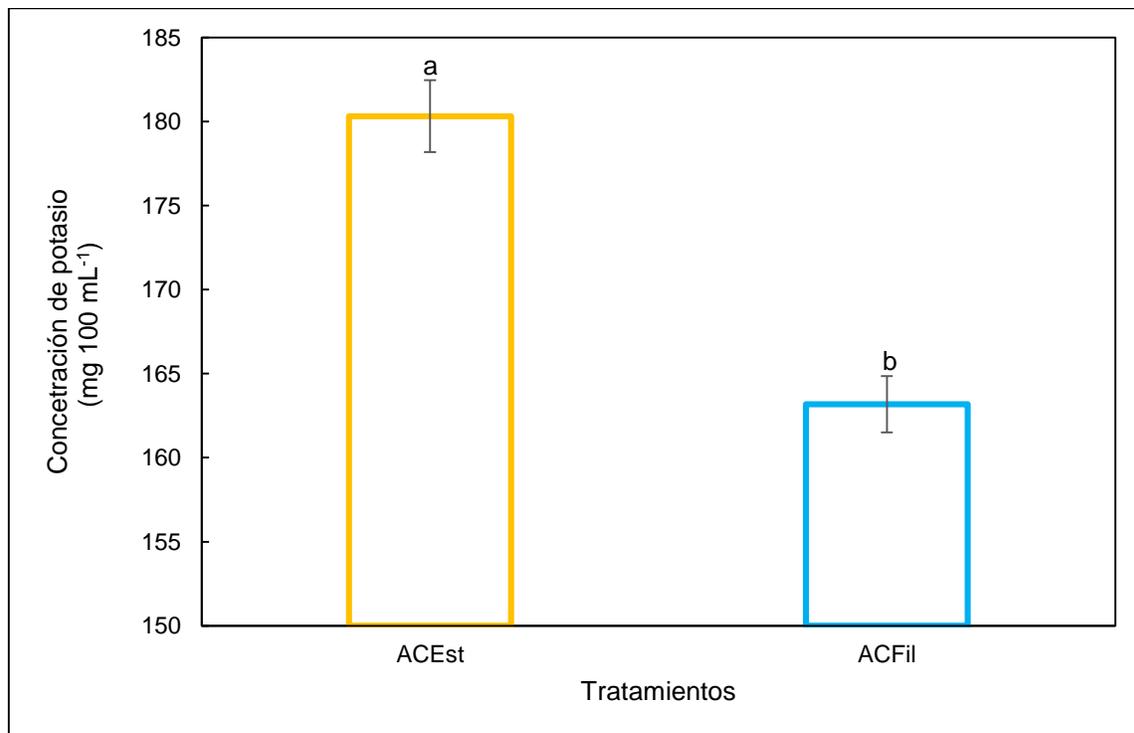


Figura 2. Concentración de potasio en muestras de agua de coco sometidas a dos tratamientos: ACFil (agua de coco filtrada) y ACEst (agua de coco esterilizada). Barras \pm DE con diferentes letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Por lo general, los trabajos reportados en el tratamiento que se da al agua de coco están dirigidos hacia la calidad que presentan para el consumo humano, por lo tanto, los procesos térmicos a los que se someten se reportan con temperaturas menores, de entre $80\text{-}100^\circ \text{C}$, y por menor tiempo, es decir, entre 2-5-10 minutos (Naik *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

- El agua de coco esterilizada a 121°C por 20 minutos presenta concentración significativamente superior de fósforo y potasio en comparación con el agua de coco filtrada.

- Es posible emplear agua de coco en el cultivo *in vitro* de especies vegetales, ya que esta aporta minerales importantes como es fósforo y potasio.

BIBLIOGRAFÍA

Alcántar-González G. & M. Sandoval-Villa, "Manual de análisis químico de tejido vegetal". Publicación especial No. 10, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, Estado de México, 1999.

Hee, K. H., Loh, C. S., & Yeoh, H. H. (2007). Early *in vitro* flowering and seed production in culture in *Dendrobium Chao Praya Smile* (Orchidaceae). *Plant cell reports*, 26, 2055-2062.

Kongbangkerd, A. P. D. A., Watthana, S., & Srimuang, K. O. (2017). Influence of organic supplements on growth and development of *in vitro* shoots of *Bulbophyllum dhaninivatii* Seidenf. *Applied Mechanics and Materials*, 855, 42-46.

Kumar, M., Saini, S. S., Agrawal, P. K., Roy, P., & Sircar, D. (2021). Nutritional and metabolomics characterization of the coconut water at different nut developmental stages. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96, 103738.

Kwiatkowski, A., Clemente, E., Scarcelli, A., & Vida, J. B. (2008). Quality of coconut water 'in natura' belonging to Green Dwarf fruit variety in different stages of development, in plantation on the northwest area of Parana, Brazil. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 6(1), 102-105.

Naik, Mohan; C. K., Sunil; Rawson, Ashish; N, Venkatachalapathy (2020). Tender Coconut Water: A Review on Recent Advances in Processing and Preservation. *Food Reviews International*, (), 1–22. doi:10.1080/87559129.2020.1785489

Prades, A., Dornier, M., Diop, N., & Pain, J. P. (2012). Coconut water uses, composition and properties: a review. *Fruits*, 67(2), 87-107.

Richter, E. M., Jesus, D. P. D., Muñoz, R. A., Lago, C. L. D., & Angnes, L. (2005). Determination of anions, cations, and sugars in coconut water by capillary electrophoresis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16, 1134-1139.

Richter, E. M., Jesus, D. P. D., Muñoz, R. A., Lago, C. L. D., & Angnes, L. (2005). Determination of anions, cations, and sugars in coconut water by capillary electrophoresis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16, 1134-1139.

Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T., & Maekawa, A. (1996). Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Food chemistry*, 57(2), 299-304.

Shekarriz, P., Kafi, M., Deilamy, S. D., & Mirmasoumi, M. (2014). Coconut water and peptone improve seed germination and protocorm like body formation of hybrid *Phalaenopsis*. *Agriculture Science Developments*, 3(10), 317-322.

Sim, G. E., Loh, C. S., & Goh, C. J. (2007). High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium Madame Thong-In* (Orchidaceae). *Plant Cell Reports*, 26, 383-393.

Uphade, B. K., Shelke, S. S., & Thorat, D. G. (2008). Studies on some physico-chemical characteristics of coconut water near sugar and chemical factory, Kopergaon (MS). *Int J Chem Sci*, 6(4), 2052-2054.

Winarto, B., & da Silva, J. A. T. (2015). Use of coconut water and fertilizer for *in vitro* proliferation and plantlet production of *Dendrobium* 'Gradita 31'. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 51, 303-314.

Yong, J. W., Ge, L., Ng, Y. F., & Tan, S. N. (2009). The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules*, 14(12), 5144-5164.

Yong, W. H., Jean, G., Yan-Fei, N. D., & Swee, N. T. (2013). The composition of plant growth regulators in coconut water. *Nat. Sci. Edu.*

ESTUDIO Y DISEÑO DE UN CONTROLADOR (LED) PARA EL ESTUDIO DE LAS COMBINACIONES DE LUZ SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE LAS PLANTAS

Mario Alberto Juárez Balderas, Jason Israel Hernández Ocampo, Sandra Navarro Gómez, Adolfo Rafael López Núñez, Gerardo Vázquez Guzman

Tecnológico Nacional de México / ITS de Irapuato.

mario.jb@irapuato.tecnm.mx

RESUMEN

La creciente demanda de alimentos ha generado que la agricultura evolucione en nuevas técnicas de cultivo, problemáticas actuales como: la reducción de espacios para cultivos, reducción de recursos naturales, aumento de la población, manejo de una producción sostenible, etc., generan nuevas estrategias para solventar dichos problemas. La demanda de alimentos requiere de una alta eficiencia para evitar desperdicios de recursos y que las plantas crezcan rápidamente. En los últimos años se acuñó un término discutible las llamadas “fábricas de plantas” en donde recursos como el agua y espacio son llevados a su máxima eficiencia, otro importante de este tipo de soluciones es la luz. La luz artificial LED tiene una gran eficiencia que cualquier otra fuente de luz, una alta vida útil, y su emisión luminosa selectiva. Los sistemas de iluminación a cultivos a interior se han empleado satisfactoriamente, sin embargo, se tiene poca información sobre los tipos de espectros o las combinaciones de estos óptima. El espectro de luz se mide en nanómetros y las diferentes longitudes de onda dan lugar a los diferentes colores, algunas plantas crecen rápidamente con espectros de entre 450 y 495 nm (azul), y otras plantas con combinaciones de luz azul y roja, no se limita el uso a luces rojas o azules, sino también existen otras combinaciones de color. Para establecer las diferentes combinaciones colores es necesario un luminario con diferentes colores de luz y ecualizarlas para obtener los tonos deseados en este trabajo se propone el uso de un luminario ecualizado para ser implementado en la agricultura interior. Para producir luz de diferentes colores se han empleado lámparas de tipo RGB que no son más que un arreglo matricial del rojo, azul y verde, que para obtener diferentes tonalidades se mezclan a diferentes potencias.

El objetivo del trabajo consiste en la construcción de un banco de pruebas donde se puedan obtener diferentes espectros de luz, así como diferentes intensidades (lúmenes), combinado diferentes tipos de lámparas LED, el prototipo consiste en diseñar un convertidor con corrección del factor de potencia para alimentar las diferentes lámparas. Estudios han establecidos que las siguientes combinaciones espectrales son óptimas para lograr un máximo crecimiento de las plantas: 1) luz blanca, azul y roja, 2) Blanco y rojo, 3) Rojo, azul y verde, 4) Blanco-rojo-azul, 5) Rojo, azul y rojo lejano. Para la propuesta se han utilizado lámparas de con colores individuales, empleando lámparas de potencia y se diseña el controlador. Los resultados mostrados por usando un microcontrolador que gobierne tres a seis tipos diferentes de lámparas a través de señales PWM, estas se controlan de manera independiente con un convertidor del tipo reductor por lámpara LED, además la lámpara se puede programar para obtener las diferentes tonalidades y combinaciones posibles. Con este proyecto se facilita el uso de lámparas en la agricultura, usando de los diferentes colores para el crecimiento de las plantas, el uso lámpara LED de permite diferentes tonalidades con el fin de variarla la tonalidad dependiendo del tipo cultivo.

INTRODUCCIÓN

La iluminación es clave en nuestra vida diaria. Avances en tecnologías de iluminación requieren sistemas de control para ahorrar energía sin perder eficiencia. Nuevas tecnologías permiten investigar y desarrollar controladores para nuevas aplicaciones. Existen cuatro componentes implícitos en la radiación de iluminación, los cuales determinan el nivel de salud visual.

1. Componente de luz visible.
2. Nivel de conducción y convección.
3. Nivel de componente de infrarrojo.
4. Componente de ultravioleta.

De estos cuatro factores, la iluminación LED solo posee componentes en el rango de la luz visible, lo cual garantiza un nivel de confiabilidad alto, erradicando emisiones de UV e infrarrojo que afectan directamente la salud del usuario [1].

En cambio, en las plantas la luz juega un papel muy importante: La luz desempeña un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de las plantas. A través de un proceso llamado fotosíntesis, las plantas convierten la energía lumínica en energía química para producir su alimento. Además de la fotosíntesis, la luz también afecta otros aspectos del crecimiento de las plantas, como la germinación de semillas, la formación de hojas y flores, y la dirección del crecimiento. El espectro de luz es una variable crucial en el crecimiento de las plantas. Las plantas responden de manera diferente a las diferentes longitudes de onda de luz. Por ejemplo, la luz azul y la luz roja son especialmente importantes para la fotosíntesis, mientras que la luz roja lejana es esencial para la germinación de semillas. Algunas plantas también requieren de un período de oscuridad para florecer y producir frutos. La intensidad de la luz también desempeña un papel crítico en el crecimiento de las plantas. Una luz insuficiente puede llevar a un crecimiento débil y alargado de las plántulas, mientras que una luz intensa puede dañar las hojas y reducir la eficiencia fotosintética. Cada especie de planta tiene requisitos específicos de intensidad lumínica para un crecimiento óptimo.

La duración del período de luz también es importante para el crecimiento de las plantas. Las plantas se clasifican en fotoperiódicas cortas o largas según sus necesidades de luz. Algunas plantas florecen cuando los días son más largos, mientras que otras florecen cuando los días son más cortos. El período de luz también influye en la formación de raíces y en la transición de una etapa de crecimiento vegetativo a una etapa reproductiva. Para controlar la tonalidad, color de luz, tiempo de exposición se realiza a través de convertidores de potencia, los cuales controlarán el nivel de voltaje y potencia entregada, además de regular el ciclo de trabajo de las conmutaciones que son aplicadas al arreglo luminoso [2].

TEORÍA

Primer se hablará de tipo de Led que se utilizará para el control lumínico. En este presente proyecto se elige el LED RGB modelo 31518-OP de 10 watts. La estructura del LED se encuentra en ánodo común, y cada línea de color requiere de una corriente en conducción de 350mA. Proporciona aproximadamente 400 lúmenes teniendo como corriente de conducción total de 1000mA.

En cuestiones de emisión de luz por parte del color rojo genera un ancho de línea espectral de 625nm, para el color verde 520nm y finalmente para el color azul 465nm. En un primer cálculo se determinar la resistencia limitadora de corriente. Para este procedimiento se toma en consideración el voltaje máximo del controlador, el voltaje de umbral de la línea de color, y finalmente la corriente funcional del color indicado, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 3. Valor de resistencia limitadora de corriente para cada color LED RGB.

COLOR	VALOR DE RESISTENCIA
Rojo	$R = \frac{V_{Fuente} - V_{LED}}{I_{Funcional}} = \frac{12V - 1.9V}{350mA} = 28.85\Omega$
Verde	$R = \frac{V_{Fuente} - V_{LED}}{I_{Funcional}} = \frac{12V - 2.4V}{350mA} = 27.4\Omega$
Azul	$R = \frac{V_{Fuente} - V_{LED}}{I_{Funcional}} = \frac{12V - 3.4V}{350mA} = 24.57\Omega$

Como se visualiza en la Tabla 2, los valores de resistencia obtenidos no son comerciales, por lo que para la implementación se asemejará al valor de resistencia de 27 Ohms.

Como segundo paso se realizan mediciones de intensidad luminosa, y adicionalmente se establece una relación para determinar la cantidad de lúmenes proporcionados por cada color (véase Tabla 2), con el fin de obtener un valor estándar aproximado, el cual deberá de ser semejante al diseñar el presente sistema de control.

Tabla 4. Valor de iluminancia con sistema de control comercial.

COLOR	VOLTAJE POR COLOR			ILUMINANCIA (Lx)	LUMINOSIDAD (Lm)
	ROJO	VERDE	AZUL		
	5.3	0.24	0.189	839	105
	4.32	9.13	0.57	2610	327.98
	4.17	8.6	6.3	4610	579
	5.85	6.6	0.35	1580	198.54
	4.24	8.68	7.01	3310	415.94
	4.59	6.27	8.46	4200	527.78
	5.77	7.28	0.392	1860	233.73
	4.2	8.43	7.46	3700	464.95

	4.96	6.24	8.34	3850	483.8
	5.71	7.8	0.419	2070	260.12
	4.17	8.27	7.84	3950	496.37
	5.34	6.21	8.23	3500	439.82
	5.67	8.19	0.445	2230	280.23
	4.14	8.16	8.11	4120	517.73
	5.66	6.18	8.13	3180	399.61
	5.19	7.93	7.9	3290	413.43

Parámetros de diseño del convertidor

Se optó por hacer uso convertidor reductor, con el fin de suministrar la tensión de voltaje necesaria para cada línea de color. Una de las principales razones por las cuales se elige este tipo de convertidor es debido a que el LED a utilizar requiere de voltajes menores a los 10 volts,

El arreglo por utilizar se deriva de la configuración básica del convertidor reductor (véase Fig. 1). En primera instancia se establecen los parámetros de rendimiento del convertidor para tener una funcionalidad en del modo de conducción continua (MCC).

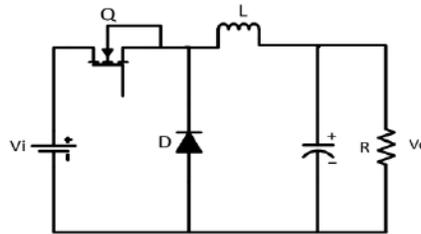


Figura 6. Topología típica de convertidor DC-DC reductor.

Establecido que el convertidor permanecerá en MCC, se requiere determinar el valor de capacitor, resistencia e inductor, con el fin de suministrar un voltaje a la salida de 9 volts, teniendo una alimentación de 12 volts, proporcionando una potencia de salida de 3 watts, todo ello con una frecuencia de conmutación de 50kHz. De acuerdo con el comportamiento del convertidor reductor, se establecen las ecuaciones mostradas en la Tabla 3, con las cuales se logran determinar los parámetros de diseño del convertidor en cuestión [3].

Tabla 5. Ecuaciones para determinar los parámetros de diseño en MCC [11].

PRÁMETROS	ECUACIÓN
Ciclo de trabajo (D)	$D = \frac{V_o}{V_i}$
Inductor (L)	$L = \frac{(V_i - V_o)}{\Delta I L F_s}$
Capacitor (C)	$C = \frac{V_o * (1 - D)}{8 * \Delta V_o * L * F_s}$

Cabe destacar que se pretende tener un rizo de voltaje y corriente a la salida mínimo, siendo este para el rizo de voltaje (ΔV_o) menor 180mV, lo cual equivale a menos del 1%, por otra parte, el rizo de corriente (ΔI_o) es aproximadamente 35mA que equivale al 10%. Teniendo en cuenta dichas consideraciones, se determina que el ciclo de trabajo es del 75%, empleando un inductor (L) y capacitor (C) de 1.28mH y 486nF respectivamente.

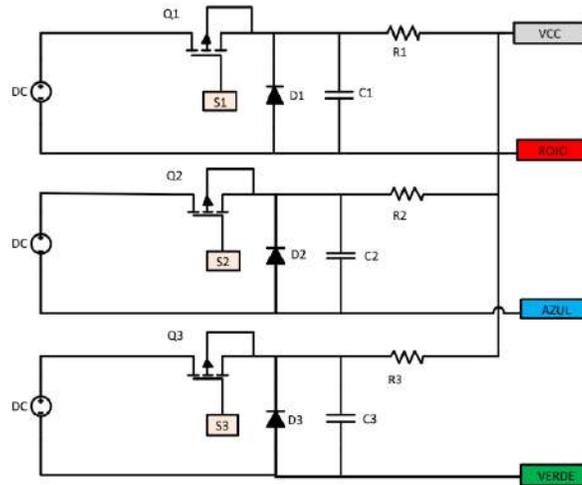


Figura 7. Topología convertidor reductor ánodo común.

El emplear este tipo de topología facilita la manipulación en conjunto del LED RGB, que en sí los convertidores comparten el polo positivo de salida, sin embargo, en sus conmutaciones son independientes, por lo que no se perjudican entre sí, ni aportan voltaje y/o corriente entre sí.

PARTE EXPERIMENTAL

El inductor se diseñó con un toroide circular de 3.5cm de diámetro, se utiliza el MOSFET IRF730.

El diodo empleado para esta aplicación es el MUR840, debido a que el valor del capacitor calculado para el modo de conducción continua no es comercial, se decide por un capacitor de 470nF. El prototipo se muestra en la Figura 3.

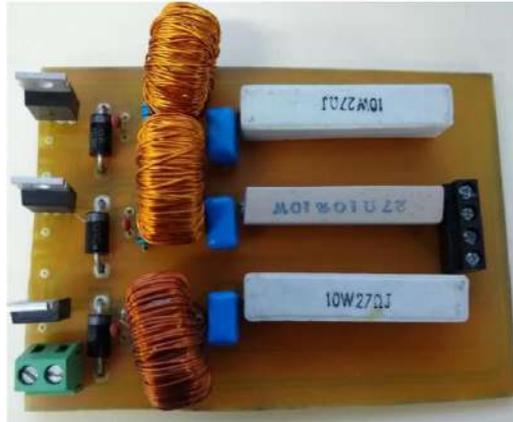


Figura 8. Implementación de convertidores reductores tipo ánodo común.

En primera instancia se analiza el comportamiento de las conmutaciones por parte del MOSFET IRF730 de forma física (véase Figura 4).

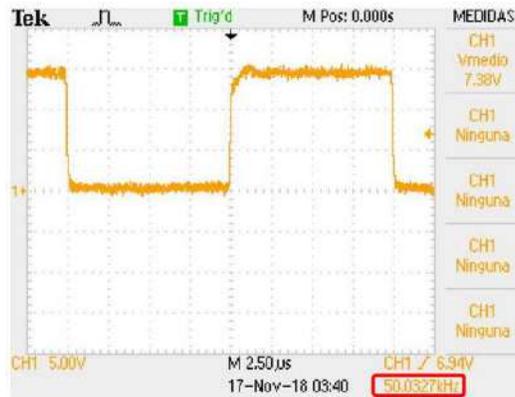


Figura 9. Conmutación Drenaje-Fuente MOSFET IRF730.

Las conmutaciones obtenidas en el MOSFET son las adecuadas, por lo que se procede a analizar el comportamiento del diodo de rápida conmutación utilizado, en este caso el MUR840. En la figura 5 se muestra la forma de onda obtenida en las conmutaciones del diodo, en la figura se observa una buena conmutación lo que implica una buena eficiencia del convertidor.

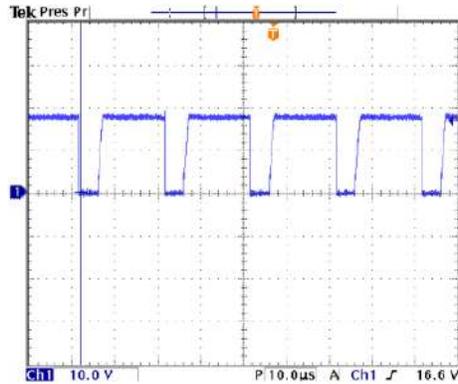


Figura 10. Conmutación diodo MUR840.

En la Figura 6 se aprecia que el voltaje promedio obtenido es de 8.37v, semejante al calculado de 9v. La dinámica presentada durante el funcionamiento del convertidor es la ideal de acuerdo a los parámetros de diseño establecidos.

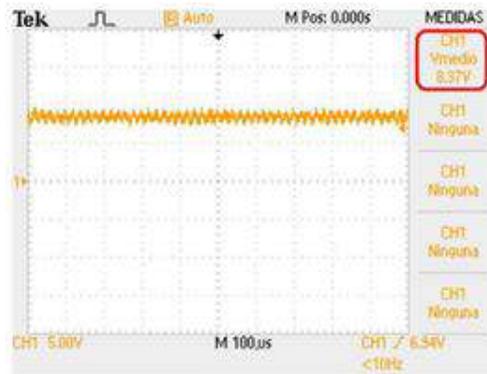


Figura 11. Voltaje de salida del convertidor reductor.

RESULTADOS

. En la Tabla 4 se muestra la comparación de los valores obtenidos con el sistema comercial y con el sistema desarrollado.

Tabla 6. Valores de iluminancia y luminosidad con sistema de control desarrollado.

COLOR	SISTEMA DE CONTROL COMERCIAL		SISTEMA DE CONTROL DESARROLLADO	
	ILUMINANCIA (Lx)	LUMINOSIDAD (Lm)	ILUMINANCIA (Lx)	LUMINOSIDAD (Lm)

	839	105	830	104.3
	2610	327.98	2710	340.5
	4610	579	4720	593.13
	1580	198.54	1600	201.06
	3310	415.94	3120	392.07
	4200	527.78	4320	542.86
	1860	233.73	1910	240.01
	3700	464.95	3680	462.44
	3850	483.8	4000	502.6
	2070	260.12	2100	263
	3950	496.37	4010	503
	3500	439.82	3600	452.39
	2230	280.23	2310	290
	4120	517.73	4250	534.01
	3180	399.61	3200	402.12
	3290	413.43	3340	419.71

La comparación con controlador y el desarrollado son mínimas, siendo estas en gran parte de las mediciones de solo ± 10 lúmenes. Una de las ventajas del sistema desarrollado es que, a partir del porcentaje de cada línea de color se puede modificar la intensidad luminosa para tener una intensidad luminosa homogénea esto se logra combinando los diferentes ciclos de trabajo de cada convertidor., dicha relación es mostrada en la Tabla 5.

Tabla 7. Porcentaje de ciclo de trabajo para convertidores por la línea de color.

COLOR	% DE CICLO DE TRBAJAO		
	ROJO	VERDE	AZUL
	44.16%	2%	1.57%
	36%	76.08%	4.75%
	34.75%	71.66%	52.50%
	48.75%	55%	2.91%
	35.33%	72.33%	58.41%
	38.25%	52.25%	70.50%
	48.08%	60.66%	3.26%
	35%	70.25%	62.16%
	41.33%	52%	69.50%
	47.58%	65%	3.49%
	34.15%	68.91%	65.33%
	44.50%	51.75%	68.58%
	47.25%	68.25%	3.70%
	34.50%	68%	67.58%
	47.16%	51.50%	67.75%
	43.25%	66.08%	65.83%

Con el fin de obtener una linealidad, a partir de los porcentajes de ciclo de trabajo obtenidos, se deberá de aumentar o disminuir en 1% el ciclo de trabajo de cada línea de color, con el fin de seguir teniendo la misma relación de distribución de color, pero con distinta intensidad. Una de las mayores ventajas de utilizar este tipo de LED RGB, es que se pueden reproducir gran parte del espectro de luz visible, esto fue aseverado de acuerdo con la reproducción de los colores mostrados en la figura 9.

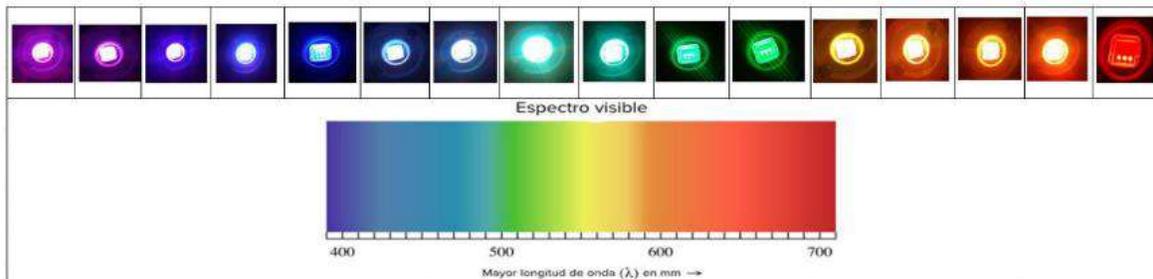


Figura 12. Diagrama de bloques general de la validación experimental.

CONCLUSIONES

El espectro electromagnético luminoso tiene efectos específicos en el crecimiento y desarrollo de las plantas. La luz roja y azul son fundamentales para la fotosíntesis y el crecimiento vegetativo, mientras que otras longitudes de onda, como la luz ultravioleta, pueden desencadenar respuestas de protección. Es importante proporcionar a las plantas la combinación adecuada de luces para su óptimo desarrollo. Por lo tanto, el desarrollo de nuevos controladores o convertidores de CD/CD para el control de intensidad, de cantidad de luz, y del tipo de color se logran a través de la electrónica de potencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guerrero R. Esteban O. "La electrónica de potencia en los sistemas de iluminación". Artículo. UTM. 2008.
2. Barroso A., Dupuis P., Alonso C., Jammes B., Seguiet L. and Zissis G., "A characterization framework to optimize LED luminaire's luminous efficacy," Industry Applications Society Annual Meeting, 2015 IEEE, Addison, TX, 2015, pp. 1 -8.
3. Muhammad H. Rashid. (2004) Electrónica de potencia, Tercera edición; Pearson Educación, México, pag.186-190.

ACTIVIDAD DE MICROORGANISMOS CELULOLÍTICOS PROVENIENTES DEL ÁREA NATURAL PROTEGIDA "SIERRA DE LOS AGUSTINOS" GUANAJUATO, MÉXICO

Ricardo Hernández Martínez¹, María José Enríquez Arredondo¹, Fernando Guevara Cordova¹, Adán Topiltzin Morales Vargas¹ y Blanca Estela Gómez Luna¹

Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Agroindustrial.
r.hernandez.m@ugto.mx

RESUMEN

Los productos y servicios biotecnológicos catalizados por enzimas son una alternativa a los procesos químicos tradicionales, ya que estos producen menos subproductos y son más selectivos en la obtención del producto final. Dentro del grupo de enzimas con interés se encuentran las celulasas, usadas en diversas industrias como la alimenticia, para extraer diversos productos vegetales. Se han aislado y caracterizado microorganismos capaces de degradar la celulosa, con especial atención a las bacterias, ya que pueden ser candidatos ideales para la producción de celulasas debido a sus características como su rápido crecimiento y adaptabilidad a diversos ambientes. El objetivo de este trabajo fue identificar bacterias con potencial actividad celulolítica como fuente de estas enzimas. Las cepas bacterianas se obtuvieron de zonas con alta humedad y presencia de materia orgánica en descomposición dentro del área natural protegida "Sierra de los Agustinos" del estado de Guanajuato. La actividad celulolítica de las cepas se realizó placas de agar con carboximetilcelulosa por la presencia de halos de hidrólisis después de la tinción con Rojo del Congo. Se determinó el radio de hidrólisis (RH) y se evaluó la actividad enzimática con la producción de azúcares reductores en cepas con mayor RH. Se identificaron dos aislados bacterianos con buena actividad celulolítica, los cuales podrían usarse como fuente para la producción de celulasas.

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de alternativas más sostenibles y eficientes a los procesos químicos tradicionales, la biotecnología presenta opciones viables y prometedoras. En particular, los productos y servicios biotecnológicos catalizados por enzimas, los cuales ofrecen una serie de ventajas, como la reducción de subproductos y una mayor selectividad en la obtención del producto final (Arroyo *et al.*, 2014).

Las celulasas son enzimas altamente relevantes en la industria biotecnológica debido a su capacidad de catalizar la hidrólisis de la celulosa, que es el principal componente estructural de los vegetales, en compuestos más simples, como la glucosa. La celulosa es un polisacárido compuesto por moléculas de glucosa anhidra, unidas por enlaces β -1,4 glucosídicos. La configuración β de la celulosa permite la formación de cadenas lineales largas que se unen mediante puentes de hidrógeno intramoleculares, creando una estructura supramolecular cristalina y organizada (Ovando-Chacón & Waliszewski, 2005). Esta estructura crea una barrera que obstaculiza la liberación y extracción de los componentes de interés de la materia vegetal. Por consiguiente, es importante contar con agentes externos que permitan eliminar esta barrera, y es en este contexto donde las enzimas juegan un papel fundamental.

En términos generales, las enzimas celulasas están compuestas principalmente por tres tipos de enzimas que actúan de manera sinérgica: endoglucanasas, las cuales catalizan la hidrólisis de las cadenas de celulosa expuestas en el polímero de celulosa; exoglucanasas (celobiohidrolasas), las cuales liberan celobiosa de los extremos reductores y no reductores; y β -glucosidasas, las cuales colaboran en la ruptura de la celobiosa y el celooligosacárido de cadena corta en glucosa (Liang *et*

al., 2014). Estas enzimas han adquirido una gran importancia en diversas industrias, tales como la alimentaria, textil, papelería, agrícola e investigativa, gracias a su capacidad para optimizar procesos; presentando ventajas, como una alta especificidad de sustrato, poder trabajar en condiciones suaves de pH, temperatura y presión y con su contribución al cuidado del ambiente al generar procesos más limpios (Izarra *et al.*, 2010).

En este sentido, se han llevado a cabo estudios con el objetivo de aislar y caracterizar microorganismos capaces de degradar la celulosa. En particular, se ha dado especial atención a las bacterias debido a sus características que les hacen adecuadas para la producción de celulasas, incluyendo su rápido crecimiento, adaptabilidad a diversas condiciones y la escalabilidad de los procesos fermentativos. En base a la clasificación de Sharma *et al.* (2016), algunos géneros bacterianos celulolíticos identificados son: bacterias gram positivas aerobias como *Cellulomonas* y *Thermobifida*; bacterias deslizantes aerobias como *Cytophaga* y *Sporocytophaga*; y bacterias fermentativas anaerobias, en su mayoría gram positivas como *Caldicellulosiruptor*, *Clostridium* y *Ruminococcus*, así como unas pocas bacterias gram negativas, como *Acetivibrio*, *Butyrivibrio* y *Fibrobacter*. Las bacterias anaerobias degradan la celulosa principalmente mediante un sistema de celulasas complejas, mientras que los aerobios lo hacen mediante un sistema de celulasas extracelulares (Sharma *et al.*, 2016). La producción de enzimas está estrechamente controlada en los microorganismos en donde la eficiencia en la producción de celulasa parece depender de múltiples factores, incluyendo el tamaño del inóculo inicial, el pH, la temperatura, la presencia de inductores, aditivos en el medio, la aireación y el tiempo de crecimiento, entre otros (Sethi *et al.*, 2013).

Dentro los métodos principales para la identificación de actividad celulolítica es la medición de azúcares reductores que se acumulan después de la hidrólisis enzimática de la celulosa. (Shuangqi *et al.*, 2011). Se puede hacer uso de celulosa amorfa como sustrato, dentro de ellas la carboximetilcelulosa (CMC), para la determinación y caracterización de la actividad enzimática (CMCasa) mediante la formación de dichos azúcares reductores. El CMC es un derivado de la celulosa modificada químicamente con grupos carboximetilo (-CH₂-COOH) en la fracción hidroxilo de las unidades de glucopiranososa, lo que hace que el sustrato sea soluble en agua (Blanchette *et al.*, 2012). Este método permite identificar directamente endoglucanasas con actividad contra la celulosa amorfa (Rooks *et al.*, 2012). Esta enzima ataca aleatoriamente en los sitios internos de la región amorfa de la cadena de celulosa, generando así nuevos extremos de cadena y oligosacáridos de longitudes variables (Sharma *et al.*, 2016).

Las bacterias con actividad celulolíticas pueden ser aisladas de diversos ambientes, incluyendo suelo de áreas naturales protegidas (ANP), las cuales son regiones del territorio nacional que presentan ecosistemas naturales no significativamente alterados por la actividad humana o que requieren ser preservadas y restauradas para la conservación in situ de la biodiversidad (DOF, 2000). En consecuencia, estas áreas geográficas constituyen un recurso valioso de microorganismos que pueden ser explotados para fines científicos y tecnológicos innovadores. Como resultado de lo anterior, el objetivo de esta investigación consistió en identificar cepas bacterianas provenientes de suelos del ANP "Sierra de los Agustinos", localizada en el municipio de Acámbaro, estado de Guanajuato, que exhiban actividad celulolítica potencial.

PARTE EXPERIMENTAL

El material biológico utilizado fue una colección de bacterias provenientes de muestreos de suelo realizados en el ANP la "Sierra de los Agustinos" en el municipio de Acámbaro del estado de Guanajuato, con coordenadas de localización geográfica 20° 13' 24" latitud Norte, 100° 42' 28"

longitud Oeste, con altura promedio de 2508 msnm; proporcionado por el laboratorio de investigación en biotecnología de la Universidad de Guanajuato Campus Celaya - Salvatierra. La zona de muestreo presentaba materia vegetal en descomposición y alta humedad.

La identificación de la actividad CMCasa de forma cualitativa se realizó en agar CMC (Mandels & Reese, 1957), el cual contiene CMC, 5.0; KH_2PO_4 , 2.0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.4; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.3; CaCl_2 , 0.3; extracto de levadura, 0.4; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.005; MnSO_4 , 0.0016; ZnCl_2 , 0.0017; CoCl_2 , 0.002 y agar bacteriológico, 15.0 g L^{-1} , pH 7.0. Se utilizó el método de siembra por picadura y se incubó a 29°C por 48 h. Después del período de incubación, el medio CMC se inundó con una solución acuosa de Rojo Congo 1% (p/v) durante 15 min; se retiró el Rojo Congo y las placas se trataron de nuevo inundándolas con NaCl 1 M por 15 min (Liang *et al.*, 2014). Después de 1 h se retiró la solución y observó cuáles de los aislados fueron capaces de degradar CMC por la formación de un halo de aclaramiento alrededor de la colonia. Posteriormente se calculó el radio de hidrólisis (RH) como la relación entre el tamaño de la colonia y el halo de hidrólisis. Dicho parámetro sirvió como criterio para la selección de cepas a analizar de manera cuantitativa.

Las cepas con mayor RH se sembraron en caldo nutritivo (extracto de carne, 3.0; peptona, 5.0; NaCl, 5.0 g L^{-1} , pH 7.0) y llevaron a incubadora con agitación orbital a 28°C, 150 rpm por 24 horas, a partir de estos cultivos se realizaron inóculos en 5 mL de solución salina al 0.85% (p/v) ajustando la concentración bacteriana a una densidad óptica medida a 600 nm de longitud de onda de 0.1.

Se realizaron fermentaciones por triplicado de las cepas seleccionadas sembrando el inóculo inicial de 5 mL en 75 mL de caldo Mandels modificado (Liang *et al.*, 2014), el cual contiene CMC, 10.0; KH_2PO_4 , 1.5; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.5; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.3; CaCl_2 , 0.1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.005; MnSO_4 , 0.0016; ZnCl_2 , 0.0017; y CoCl_2 , 0.002 g L^{-1} , pH 7.0. Los cultivos se incubaron en agitador orbital a 29°C, 150 rpm durante 60 horas. Se tomaron muestras cada 12 h las cuales se centrifugaron a 12,000 rpm por 10 min a 4°C. El sobrenadante se reservó como enzima cruda para evaluar la actividad enzimática a través de la cuantificación de azúcares reductores generados a partir de la hidrólisis de CMC durante la reacción enzimática usando la técnica del ácido 3,5 – dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959).

La reacción enzimática se realizó mezclando 200 μL de enzima cruda con 200 μL de CMC 2% (p/v) en 800 μL de 100mM buffer de citrato de sodio (pH 5.5) en baño maría a 50°C durante 60 min. Posteriormente la reacción se detuvo en baño de hielo durante 10 minutos. Se tomó 1 mL de la muestra apropiadamente diluida y se añadió 1 mL de DNS, la mezcla se calentó en agua ebulviendo por 5 minutos para el desarrollo de color. Finalmente, la muestra se transfirió a una celda de espectrofotómetro y se midió la absorbancia a 540 nm contra un blanco que contiene todos los reactivos menos la enzima cruda.

Para reportar los resultados de la actividad CMCasa se tomaron los datos de la media experimental de la concentración de azúcares reductores y se calculó la actividad de los extractos enzimáticos obtenidos por medio de la siguiente ecuación (Castelblanco *et al.*, 2020):

$$\frac{U}{\text{mL}} = \frac{\left(\frac{[Gm] - [Gb]}{MMa} \right) * 10^6}{tR} \cdot Fd \quad (\text{Ec. 1})$$

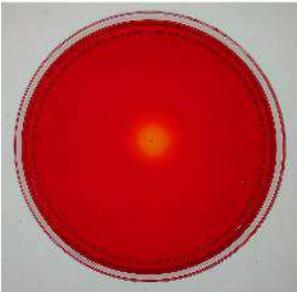
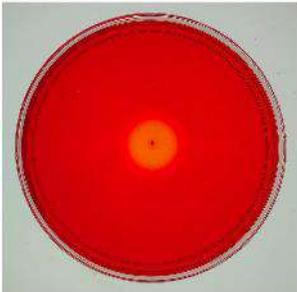
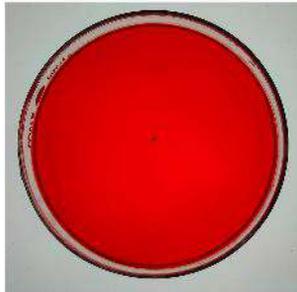
Donde una unidad enzimática (U) se define como la cantidad de enzima capaz de liberar un micro mol de glucosa por mL por min bajo las condiciones de la prueba, (Gm) la concentración de azúcar de la muestra en mg/mL, (Gb) la concentración de glucosa blanco en mg/mL, (MMa) la masa molecular de glucosa, (tR) el tiempo de reacción enzimática y (Fd) el factor de dilución de la muestra.

Finalmente se graficaron los valores de la actividad enzimática según el tiempo de fermentación transcurrido.

RESULTADOS

Se llevó a cabo la evaluación un total de 52 cepas bacterianas provenientes de suelos del ANP la “Sierra de los Agustinos”. Tras el análisis cualitativo, se identificaron 12 cepas que presentaron actividad CMCasa, evidenciada por la presencia de un halo alrededor de la colonia. No obstante, se observó que las cepas identificadas bajo los códigos 417 y 419 presentaron un mayor RH (Tabla 1). En virtud de ello, se seleccionaron dichas cepas para la evaluación cuantitativa de la actividad CMCasa, a través de la producción de azúcares reductores.

Tabla 1. Resultados evaluación cualitativa de actividad celulolítica de cepas.

Código de cepa	417	419	400 (Control negativo)
Tinción con Rojo del Congo			
Diámetro de la colonia	0.394 cm	0.196 cm	-
Diámetro de halo	1.884 cm	2.010 cm	-
RH	4.790	10.250	-

Bajo las condiciones de incubación predefinidas, se registró una mayor actividad CMCasa a las 36 h de fermentación para la cepa 419 y a las 48 h para la cepa 417, evidenciada por un valor de U/mL de 43.34 y 27.69, respectivamente, tal como se ilustra en la Figura 1. La actividad enzimática de los aislados se puede correlacionar con el radio de hidrólisis generado de cada una de las cepas seleccionadas. Asimismo, se observó una disminución en la viscosidad del caldo de fermentación, la cual se asoció con la actividad enzimática.

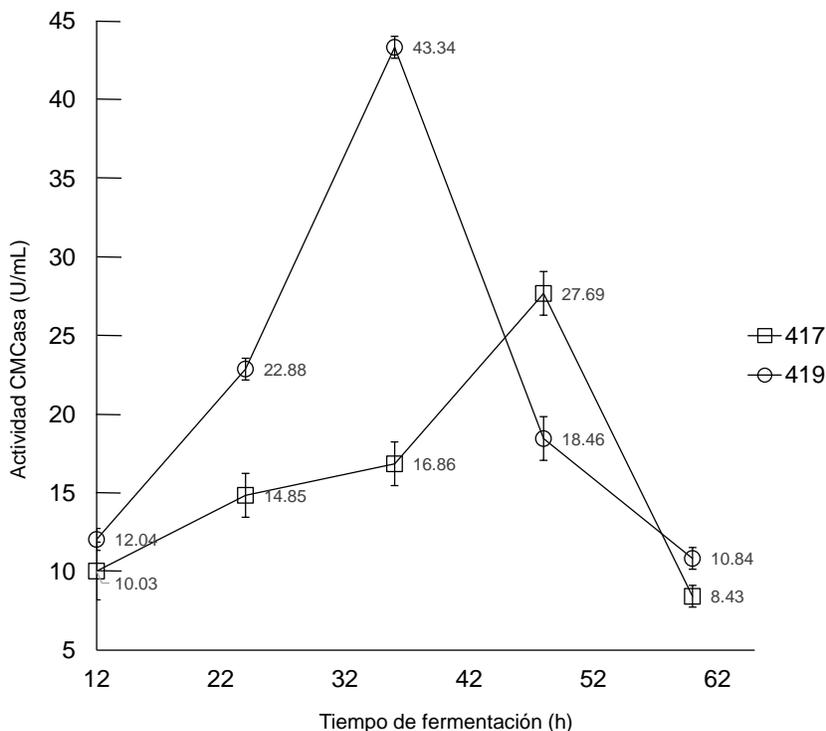


Figura 1. Efecto en la producción de CMCasa en base al tiempo de incubación.

CONCLUSIONES

Las cepas bacterianas 417 y 419 han sido identificadas como adecuadas productoras de celulasas bacterianas. Representando otra alternativa viable para la producción de celulasas mediante procesos fermentativos. Este estudio ha demostrado que la biodiversidad presente en las ANP puede ser una fuente importante de agentes productores de enzimas líticas, lo que abre nuevas posibilidades para la industria y la investigación. Debido a la destacada capacidad de la cepa 419 para sintetizar CMCasa, dicha cepa se posiciona como un sujeto de interés para futuras investigaciones, particularmente en lo que concierne a la optimización de las condiciones de cultivo con el propósito de incrementar el rendimiento en la producción de esta enzima.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arroyo, M., Acebal, C., & de la Mata, I. (2014). Biocatálisis y biotecnología. *Arbor*, 190(768), a156. <https://doi.org/https://doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4010>
2. Blanchette, C., Lacayo, C., Fischer, N., Hwang, M., & Thelen, M. (2012). Enhanced cellulose degradation using cellulase-nanosphere complexes. *PLoS ONE*, 7(8), e42116. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042116>
3. Castelblanco, E. M., Martín, J. P., Morales, S. M., & Rodríguez, J. P. (2020). Aislamiento e identificación de microorganismos potencialmente amilolíticos y celololíticos de suelos de humedales de Bogotá. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 22(1), 36-44.
4. Diario Oficial de la Federación (DOF), (3 de Julio de 2000). Ley General de Vida Silvestre. Ciudad de México, México.
5. Izarra, M. L., Santayana, M. L., Villena, G. K., & Gutiérrez-Correa, M. (2010). Influencia de la concentración de inóculo en la producción de celulasa y xilanasa por *Aspergillus niger*. *Revista Colombiana de biotecnología*, 12(2), 139-150.
6. Liang, Y. L., Zhang, Z., Wu, M., Wu, Y., & Feng, J. X. (2014). Isolation, screening, and identification of cellulolytic bacteria from natural reserves in the subtropical region of China and optimization of cellulase production by *Paenibacillus terrae* ME27. *BioMed research international*, 2014(1), 1-13.
7. Mandels, M., & Reese, E. T. (1957). Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon sources and metals. *Journal of Bacteriology*, 73(2), 269-278.
8. Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
9. Ovando-Chacón, S. L., & Waliszewski, K. N. (2005). Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. *Universidad y ciencia*, 21(42), 113-122.
10. Rooks, D. J., McDonald, J. E., & McCarthy, A. J. (2012). Metagenomic Approaches to the Discovery of Cellulases. En *Methods in Enzymology* (Vol. 510, págs. 375-394). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415931-0.00020-3>.
11. Sethi, S., Datta, A., Gupta, B. L., & Gupta, S. (2013). Optimization of cellulase production from bacteria isolated from soil. *International Scholarly Research Notices*, 2013, 1-7. <https://doi.org/https://doi.org/10.5402/2013/985685>
12. Sharma, A., Tewari, R., Rana, S. S., Soni, R., & Soni, S. K. (2016). Cellulases: classification, methods of determination and industrial applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 179(1), 1346-1380.
13. Shuangqi, T., Zhenyu, W., Ziluan, F., Lili, Z., & Jichang, W. (2011). Determination methods of cellulase activity. *African Journal of Biotechnology*, 10(37), 7122-7125.

DIFERENTES ESTRATEGIAS DE MODIFICACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS LIPASAS DE *Candida antarctica* y *Thermomyces lanuginosus* INMOVILIZADAS SOBRE OCTIL-AGAROSA

Adriana Jaime Mendoza¹, Jesús Antonio Córdova López² y José Manuel Guisán Seijas³, Jaime Mendoza^a, Jesús Antonio Córdova López^a, Gregorio Guadalupe Carbajal Arizaga^a, Gloria Fernández Lorente^b, and José Manuel Guisán Seijas^b.

1 ENMS Celaya, 2 Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, 3 Instituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC). ajmprotein@gmail.com

^aCentro Universitario de Ciencias exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, 28040, México.

^bInstituto de Catálisis y Petroleoquímica (CSIC), Campus Canto Blanco, Madrid, 28049, España. ajmprotein@gmail.com

RESUMEN

Los grupos carboxilo de los ácidos aspárticos y glutámicos presentes en las cadenas de las lipasas de *C. antarctica* (CALB), y *T. lanuginosus* (TLL) previamente inmovilizadas en octil-agarosa fueron modificados parcial y completamente. El proceso se llevó a cabo con etilendiamina (EDA) a pH 4.75 y una concentración de carbodiimide (EDC) 1 y 10 mM, respectivamente. Los derivados aminados, posteriormente fueron entrecruzados con moléculas de dextran-aldehído con pesos moleculares de 1300, 6000 y 25 000 Da, al 20 y 100 % de oxidación. Los resultados interesantes indican que cuando la lipasa de TLL fue completamente aminada con (EDC) 10 mM y entrecruzada con dextrano 6000 oxidado al 100 % se obtuvo un incremento en el factor de estabilización de 8; mientras que con el tratamiento con dextrano oxidado al 20% el incremento en el factor de estabilización fue únicamente de 9 a 70 °C y pNPB como sustrato. Simultáneamente la lipasa de *C. antarctica* (CALB) parcialmente aminada, y con dextrano 1500 oxidado al 20 % incrementó el factor de estabilización a 10, a una temperatura de 55 °C.

INTRODUCCIÓN

Las lipasas han sido ampliamente utilizadas tanto en la industria de los alimentos, biocombustibles y química fina [6]. Un limitante en el empleo de las enzimas en procesos industriales es la desnaturalización, y por consiguiente, la pérdida de la actividad catalítica; debido principalmente a las tradicionales y agresivas condiciones físico-químicas propias de la mayoría de los procesos industriales. Es por ello necesario implementar estrategias para incrementar su estabilidad térmica, el reúso de la misma; así como facilitar su empleo en medios no convencionales, y con sustratos no-naturales [2]. Relevantemente, dentro de estas estrategias se incluyen la modificación físico-química de las lipasas en fase sólida (estrategias post- inmovilización), en donde se tienen ventajas adicionales como: mayor control de la modificación química, disminución de interacciones indeseadas proteína-proteína, se pueden introducir un gran número de grupos químicos a la estructura de la enzima, no se requiere del conocimiento previo de la estructura de la proteína; además de permitir el uso de las lipasas en medios no convencionales [2,4]. En este trabajo se sometieron a procesos de modificación química (aminación) los residuos de aminoácidos (como el ácido aspártico, ácido glutámico o las lisinas) presentes en las cadenas de las lipasas de *C. antarctica* (CALB), y *T. lanuginosus* (TLL) inmovilizadas en octil-agarosa. Los derivados aminados, posteriormente fueron entrecruzados con moléculas de dextrano. El objetivo fue ver los posibles entrecruzamientos intramoleculares de la lipasa completamente aminada con el dextrano oxidado al 100%; así como el efecto de la hidroxilación con el dextrano oxidado al 100 % y la lipasa poco

aminada, y finalmente el efecto del dextrano poco oxidado (20%) sobre la glicosilación masiva de las lipasas (CALB) y (TLL).

METODOLOGÍA

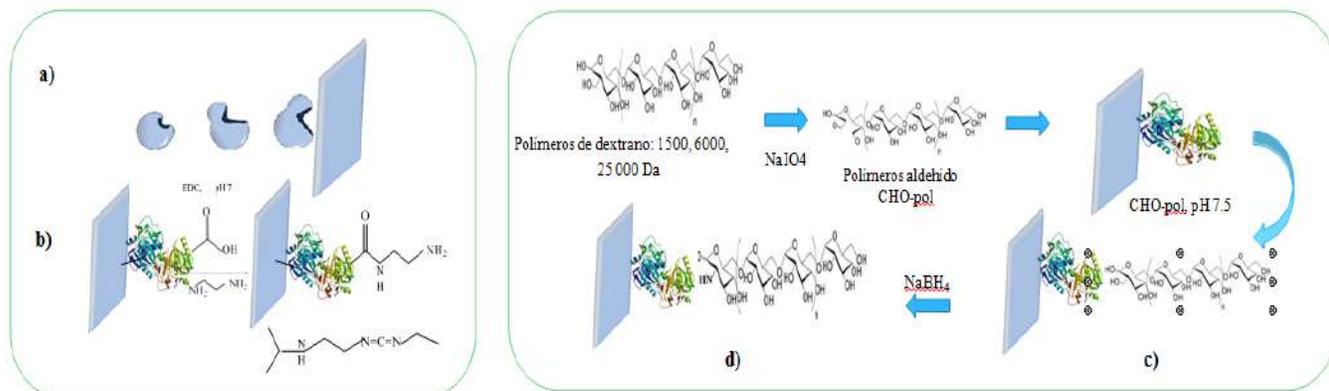


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso: a) Inmovilización de las lipasas de TLL y CALB en soportes de octil-agarosa; b) Mecanismo de afinación de proteínas mediante activación de los carboxilos con EDC (1- etil-3(3-dimetilamino-propil) carbodimida) para posterior modificación con etilendiamina (EDA); c) Preparación de los dextrans alhídos (Dextrano-CHO), d) Incorporación del oligosacárido de TLL o CALB previamente inmovilizada en octil-agarosa [3,7].

RESULTADOS

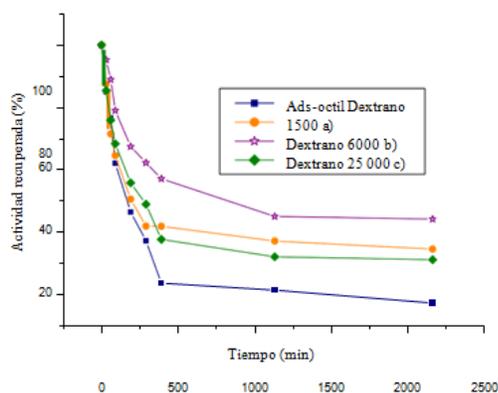


Figura 2. Cinética de estabilidad térmica *T. lanuginosus* a 70 °C con dextrans oxidado al 20%. a) Adsorbido octil-agarosa, b) Dextrano 1500, c) Dextrano 6000, d) Dextrano 25 000.

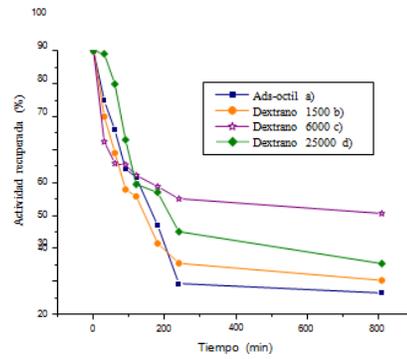


Figura 3. Cinética de estabilidad térmica *T. lanuginosus* a 70 °C con dextranos al 100%. a) Adsorbido octil-agarosa, b) Dextrano 1 500 c) Dextrano 6000, d) Dextrano 25 000.

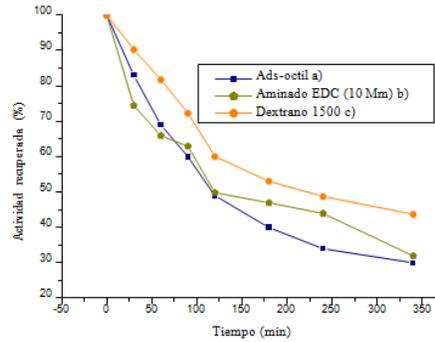


Figura 4 Cinética de estabilidad térmica *C. antarctica* a 55 °C con dextranos oxidados al 100 %. a) Adsorbido octil-agarosa, b) Aminado EDC (10 mM), c) Dextrano 1500

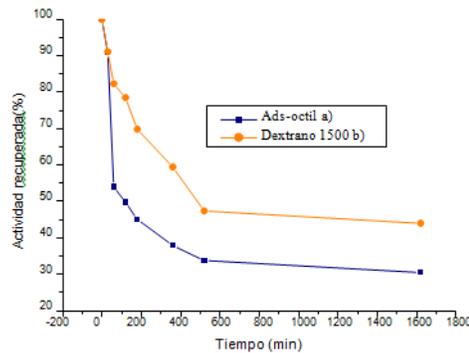


Figura 5. Cinética de estabilidad térmica *C. antarctica* a 55 °C con dextranos oxidados al 20%. a) Adsorbido octil-agarosa, b) Dextrano 1500

CONCLUSIONES

Algunos de los resultados interesantes para la lipasa de *T. lanouginosus* (TLL) indican que cuando la lipasa fue completamente aminada con (EDC) 10 mM, y entrecruzada con dextrano 6000 oxidado al 100 % se obtuvo un incremento en el factor de estabilización de 8 (fig. 3) a una temperatura de 70 °C, resultados comparados con respecto al derivado aminado y adsorbido en octil-agarosa. Indicando que puede haber posibles entrecruzamientos intramoleculares estabilizantes.

En cambio el mismo tratamiento con la TLL aminada 10 veces menos (EDC) 1 mM no tuvo efectos en el factor de estabilización, por lo que se puede decir que la hidroxilación de la superficie de la lipasa no tiene efectos estabilizantes.

El mayor grado de aminación de TLL con EDC 10mM está directamente influenciado por el alto número de ácidos aspárticos y glutámicos 19 y 12, respectivamente presentes en la superficie de la enzima [5].

El tratamiento con dextrano oxidado al 20% incrementó en el factor de estabilización de 9 (figura 2), demostrando que puede haber efectos positivos por glicosilación química en la superficie de la lipasa. Cabe mencionar que la lipasa de TLL completamente aminada mejoró la actividad enzimática en hidrólisis con *p*-NPB un 210 %, respecto a la adsorbida en octil-agarosa.

En cuanto que para la lipasa de *C. antarctica* (CALB) con dextrano 1500 oxidado al 100 %, no incrementó el factor de estabilización (figura 4); mientras que cuando el grado de oxidación del dextrano fue del 20%, se aumentó el factor de estabilización a 10 (figura 5), a una temperatura de 55 °C. Lo que sugiere que esta lipasa se ve favorecida de forma positiva por glicosilación química.

REFERENCIAS

- [1] Díaz, RA., "Chemical modification in the creation of novel biocatalysts", *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 15, p. 211- 219, 2011.
- [2] Gupta, MN., "Enzyme function in organic solvents", *Eur J Biochem*, 203, p. 25-32, 1992.
- [3] Gutarra, LEM., Romero, O., Abian O, Torres, AGF., Freire, MGD., Castro, AM, Guisán, JM., Palomo, JM., "Enzyme Surface Glycosylation in the Solid Phase: Improved Activity and Selectivity of *Candida Antarctica* Lipase B", *Chem Cat Chem*, 3, p.1902 – 1910, 2011.
- [4] Rodriguez, R., Berenguer, M., Fernández-Lafuente, R., "Coupling Chemical modification and immobilization to improve the catalytic performance of enzymes", *Adv. Synth Catal*, 353, p. 2216-2233, 2011.
- [5] Rodrigues, RC., Godoy, CA., Volpato, G., Ayub, MAZ., Fernandez-Lafuente., R, Guisan, JM., "Immobilization-stabilization of the lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Critical role of Chemical amination", *Process Biochem*, 44, p. 963-968, 2009.
- [6] Rodrigues, RC., Virgen-Ortiz, JJ., dos Santos, JCS., Berenguer, A., Alcantara, AR., Barbosa, O., Ortiz, C., Fernandez-Lafuente, R., "Immobilization of lipases on hydrophobic supports: immobilization mechanism, advantages, problems, and solutions", *Biotechnology Advances*, 37, p. 746-770, 2019.
- [7] Orrego, AH., Ghobadi, R., Moreno-Pérez, S., Jaime, A., Fernández-Lorente, G., Guisan, JM., Rocha-Martín, J., "Stabilization of Immobilized Lipases by Intense Intramolecular Cross-Linking of Their Surfaces by Using Aldehyde-Dextran Polymers", *J. Mol. Sci*, 19, p. 553, 2018.

EFFECTO DEL RESVERATROL SOBRE ERO Y GSH POST VITRIFICACIÓN EN BLASTOCISTOS OVINOS

Andrea Carolina González Garzón¹, Demetrio Alonso Ambriz García², Julio Porfirio Ramón Ugalde³, José Roberto Vásquez Avendaño², Alfredo Trejo Córdova², María del Carmen Navarro Maldonado².

¹Maestría en Biología de la Reproducción Animal. ²Departamento de Biología de la Reproducción-Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Ciudad de México. ³División de Estudios de Posgrado e Investigación - Tecnológico Nacional de México Campus Conkal, Yucatán.

carmennavarro2006@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los embriones producidos *in vitro* de mamíferos, sobre producen especies reactivas de oxígeno (ERO) debido a particularidades en los sistemas de cultivo, aunado a una reducida capacidad de los sistemas enzimáticos y no enzimáticos antioxidantes, que se acentúa durante la criopreservación. El resveratrol de origen vegetal ha sido utilizado como antioxidante en los cultivos *in vitro*, mejorando las tasas de blastocistos, por su efecto positivo en la disminución de los niveles de ERO en ovocitos y embriones. Sin embargo, se desconoce este efecto sobre las enzimas antioxidantes como el glutatión (GSH) en embriones producidos por fertilización *in vitro* (FIV) posterior a su vitrificación. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes concentraciones de resveratrol suplementado en el medio de maduración (MIV) de ovocitos de ovino (*Ovis aries*), y su efecto sobre la presencia de ERO y GSH en blastocistos producidos por FIV post vitrificación. Se produjeron embriones por FIV a partir de ovocitos tratados durante la MIV con diferentes concentraciones de resveratrol (0.25µM, 0.5µM y 1µM) y sin resveratrol, fertilizados en medio BO-IVF™ (IVF Bioscience) con semen descongelado de carnero. Los cigotos obtenidos se cultivaron en medios secuenciales Cleavage y Blastocyst (Cook Medical®) hasta obtener blastocistos. Con 10 µM de DCFH-DA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) se determinó cualitativamente la presencia de ERO y con 10 µM de Cell Tracker Blue® la presencia de GSH. Los resultados mostraron que el resveratrol tuvo un efecto positivo ($p<0.05$) en la presencia de GSH y un efecto negativo en la presencia de ERO ($p<0.05$) con respecto al grupo control. Se concluye que su utilización durante la MIV de ovocitos tiene un efecto benéfico luego de la vitrificación de los blastocistos.

INTRODUCCIÓN

La producción *in vitro* de embriones es una biotecnología que impacta los sistemas ganaderos, favoreciendo el mejoramiento genético y la investigación del desarrollo embrionario. Su aplicación en ovinos y bovinos se ha intensificado, así como en otras especies. A partir de ella surgieron nuevas biotecnologías como la clonación de embriones y la transgénesis. Gracias a estos avances, surge la necesidad de la conservación de los embriones producidos, a partir de técnicas de crioconservación, las que han sido un campo ampliamente desarrollado a nivel mundial en los últimos años (Parra *et al.*, 2021), sin embargo, los medios y procesos utilizados para la crioconservación y la producción *in vitro* de embriones pueden generar daños a las células, disminuyendo así la viabilidad embrionaria. Es por esto por lo que, se busca hacer más eficientes este tipo de biotecnologías, partiendo de la evidencia científica de los principales factores que ejercen este daño celular, como lo es el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Rodríguez *et al.*, 2017).

El resveratrol ha sido utilizado en técnicas reproductivas *in vitro*. Martínez *et al.* (2018), observaron que a concentraciones de 0.25 y 0.5 µM durante la maduración *in vitro* (MIV) de los ovocitos, mejora su calidad y promueve la compactación de las mórulas producidas por transferencia nuclear de células somáticas (TNCS) en ovino (*O. aries*). Otros autores reportan su uso durante la MIV, debido

a que reduce significativamente los niveles de las ERO intracelulares y aumenta las concentraciones de enzimas antioxidantes como el glutatión (GSH) y mejora el rendimiento en la producción de blastocistos, permitiendo un microambiente benéfico dentro de los ovocitos al aumentar la GSH intracelular y disminuir el nivel de ERO. Esto estimula el desarrollo embrionario y la expresión génica regulada (Mukherjee *et al.*, 2014). Por lo que en este estudio se evaluó su efecto en los niveles de ERO y GSH como características de la calidad de los embriones producidos por FIV post vitrificación, en *Ovis aries*.

TEORÍA

Efecto del resveratrol en ovocitos y embriones de mamíferos

Zabihi *et al.* (2021), midieron diferentes concentraciones de resveratrol durante la MIV, sin observar diferencias significativas en la tasa de MIV, pero sí en la tasa de blastocistos a concentraciones de 0.25 y 0.5 μM . La calidad de éstos fue mayor en los embriones producidos a partir de ovocitos tratados con 0.5 μM de resveratrol.

Mukherjee *et al.* (2014), suplementaron resveratrol (0.1, 0.25, 0.5, 2.0 y 5.0 μM) en el medio de MIV de ovocitos de vaca y cabra para determinar los niveles de ERO y del glutatión intracelular (GSH) en los ovocitos maduros. Concluyeron que a 0.25 y 0.5 μM , se reducen significativamente los niveles de ERO intracelular, aumentan las concentraciones de GSH y se estimula el desarrollo embrionario.

En otro estudio en cerda, se utilizó resveratrol a 0.1, 0.5 y 2.0 μM , durante la MIV de ovocitos, evaluando su efecto sobre los niveles de GSH y de ERO y la expresión génica en ovocitos maduros, células del cúmulo, y blastocistos derivados de la FIV. Concluyeron que concentraciones de 2.0 μM de resveratrol mejoran el potencial de desarrollo de los embriones, incrementan el GSH y disminuyen las ERO (Kwak *et al.*, 2012).

Efecto de la vitrificación sobre la presencia de ERO y el desarrollo de embriones

En embriones bovinos vitrificados, Giraldo (2011) determinó el daño a causa del malondialdehído (MDA) producido durante la oxidación de los fosfolípidos. Midió las concentraciones de MDA en medios sometidos a vitrificación y post vitrificación con y sin embriones, encontrando que el medio con embriones sometidos a vitrificación produjo 35.26% más de MDA con respecto al medio sin embriones. También pudo determinar que a mayor concentración de crioprotectores (20%), disminuían las concentraciones de MDA, ERO y ácido tiobarbitúrico (TBARs).

En ovocitos porcinos la adición de resveratrol durante la MIV y/o la vitrificación modulan el proceso apoptótico, mejorando la criotolerancia de los ovocitos porcinos vitrificados, mientras que en ovocitos bovinos reduce los niveles de ERO, aumenta las tasas de blastocistos y el número de células embrionarias. Particularmente para los embriones bovinos, la suplementación del medio de desarrollo *in vitro* con bajas concentraciones de resveratrol reduce la producción de ERO y aumenta los niveles de oxidación beta, lo que conduce a tasas de supervivencia más altas después de la crioconservación (Madrid *et al.*, 2019).

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de ovocitos

Siguiendo la metodología descrita por Martínez *et al.* (2018), se colectaron ovocitos por aspiración/punción de folículos ováricos (de 2 a 5 mm de diámetro), provenientes de ovejas

sacrificadas en un rastro local. Lo ovarios fueron transportados al laboratorio durante 2 h a 30-35 °C en solución salina (NaCl al 0,9%) y antibióticos al 1% (10.000 UI/mL de penicilina, 10 mg/mL de sulfato de estreptomycin y 25 µg/mL de anfotericina) (Antibac-Antifun 100x, In Vitro, SA). Una vez en el laboratorio, los ovarios se lavaron y posteriormente, los COC fueron colectados, puncionando los folículos ováricos con jeringas de 10 mL conteniendo 0.5 a 1 mL de medio de colecta TCM 199® con HEPES (25mM) suplementado con heparina (100UI/mL), y con agujas calibre 20 G. Los COC se evaluaron y se seleccionaron para la MIV, de acuerdo con la ASEBIR (2015).

Los COC seleccionados se dividieron en los cuatro tratamientos: 0 µM, 0.25 µM, 0.5 µM y 1 µM de resveratrol.

Maduración *in vitro* (MIV) de ovocitos de *O. aries*

La MIV se llevó a cabo utilizando Tissue Culture Medium 199 (TCM - 199®) suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (Microlab), 1% de factor de crecimiento epidérmico (EGF), 5 µg/mL de hormona estimulante del folículo (FSH) (Folltropin-V, Bioniche), gonadotropina coriónica equina (eCG) 5 UI/mL (Loeffler) y antibióticos al 0.6%. Los ovocitos se cultivaron en grupos de 25 a 30 en una caja de cuatro pozos conteniendo 400 µL de medio de MIV cubiertos con 200 µL de aceite mineral, durante 20 horas en incubación a las condiciones señaladas (Martínez *et al.*, 2018). Para los tratamientos experimentales el medio de MIV se suplementó con las diferentes concentraciones de resveratrol (0.25 µM; 0.5 µM y 1 µM, respectivamente).

Una vez transcurrida la MIV, los ovocitos se evaluaron para determinar la tasa de MIV (ovocitos en Metafase II (MII)), mediante la expansión de las células del cúmulo (CC) y la presencia del primer cuerpo polar. Para ello, los ovocitos de cada tratamiento fueron desnudados de las CC en 0.5mg/mL de hialuronidasa. En una caja Petri, se evaluaron para ver que presentaran el primer cuerpo polar. Se realizó nuevamente la selección de los ovocitos bajo los criterios de la ASEBIR (2015), con el fin de seleccionar los adecuados para la fertilización *in vitro* (FIV).

Fertilización *in vitro* (FIV) y desarrollo *in vitro* (DIV) de embriones de *O. aries*

Los ovocitos en MII fueron lavados en gotas de 50 µL con medio de fertilización atemperando a 38.5°C BO-IVF™ (IVF Bioscience) cubierto bajo aceite mineral y puestos en una gota de medio BO-FIV™ atemperado, en una caja de cuatro pozos, a una relación de 100µL/30 ovocitos, cubiertos con aceite mineral (Filipiak *et al.*, 2017).

Se utilizaron pajillas criopreservadas de ovinos fértiles, que se descongelaron a 37°C. Se evaluó la movilidad espermática post descongelación. Se realizó "Swim up" (Rodríguez, 2017) en medio MIV recuperado de los ovocitos que fueron madurados del grupo control (Salgado y Lopera, 2020).

Se tomaron 10 µL de muestra de la parte superior del tubo y se adicionaron a 100 µL de medio FIV en cajas de 4 celdas con los ovocitos de cada tratamiento, depositando 28 x 10⁶/mL de espermatozoides y se incubaron 24h a las condiciones descritas (Rodríguez, 2017).

Los ovocitos fertilizados (cigotos) fueron lavados dos veces en 50 µL de medio de DIV Cleavage (Cook Medical®) y se transfirieron a una nueva caja de cultivo colocando 25 cigotos por cada gota de 50 µL del medio cubierto con aceite mineral y se incubaron a las mismas condiciones descritas durante 4 días.

Al día 5 de cultivo, los embriones se transfirieron a otra caja conteniendo 50 µL de medio Blastocyst (Cook Medical®) y se incubaron durante 7 días (Martínez *et al.*, 2018). La tasa de DIV y la evaluación morfológica de los embriones obtenidos en cada tratamiento, se realizó bajo microscopio invertido a los 7 días de cultivo, utilizando los criterios del Manual de la IETS y de la ASEBIR (2015).

Vitrificación y desvitrificación de embriones

Siguiendo la metodología descrita por Bhat *et al.* (2015), los blastocistos de cada grupo experimental fueron vitrificados mediante la técnica Open Pulled Straw (OPS) (Vajta *et al.*, 1996).

Los blastocistos tempranos se lavaron en 800 μL de medio Holding (TCM-199 sin HEPES suplementado con 10% SFB). Posteriormente, se depositaron en 600 μL de medio Holding suplementado con 7.5% de etilenglicol y 7.5% de DMSO durante 3 minutos. Pasado este tiempo se colocaron en 600 μL de medio Holding suplementado con sacarosa (3,42gr/10mL) y 16.5% de etilenglicol y 16.5% de DMSO por 20 segundos. Inmediatamente después, se formaron microgotas de 2 μL con los embriones y se recogieron por capilaridad en una OPS. Las OPS cargadas se colocaron dentro de otra pajilla común (0.5mL) que se colocaron dentro de un recipiente con nitrógeno líquido. Finalmente se sellaron por calor para sumergirlas en el tanque de nitrógeno hasta su uso.

Para la desvitrificación, las OPS se descongelaron mediante la técnica de 3 pasos (Bhat *et al.*, 2015). Primero, se retiró la pajilla del tanque de nitrógeno y la punta de la OPS se introdujo en gotas de 400 μL de medio Holding suplementado con 50% de sacarosa, dejando los embriones allí por 5 minutos. Luego se pasaron a gotas de 1000 μL de medio Holding suplementado con 25% de sacarosa, durante 5 minutos. Finalmente, fueron lavados en 400 μL de medio holding por 5 minutos más.

Los blastocistos tempranos desvitrificados fueron nuevamente cultivados a las condiciones ya descritas por 2 días más, en medio Blastocyst (Cook Medical®) hasta lograr las etapas de blastocisto tardío y eclosionado (González, 2020).

Niveles de ERO en embriones desvitrificados

Para determinar los niveles de ERO en los blastocistos desvitrificados de cada grupo tratado, se utilizó la metodología descrita por Martínez *et al.* (2018). Finalizadas las 48 h de DIV post vitrificación (día 7 de cultivo), al medio que contenía los embriones se le adicionaron 10 μM de DCFH-DA (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate), incubando 30 minutos a las condiciones ya descritas, cubriendo la caja de cultivo con papel aluminio. Posteriormente, se realizaron tres lavados a los embriones en gotas de 100 μL de PBS (Phosphate Buffered Saline) y finalmente se montaron sobre un portaobjetos, cubriéndolos con un cubreobjetos. Se evaluaron en un microscopio de epifluorescencia con filtro UV de 460 nm y se tomaron fotografías. A mayor intensidad de fluorescencia, se consideró cualitativamente la presencia de mayores niveles de ERO en los embriones.

Niveles de glutation (GSH) en embriones desvitrificados

Para determinar los niveles de Glutation (GSH), se utilizó la metodología descrita por Nadri *et al.* (2022). Finalizadas las 48 h de cultivo de DIV post vitrificación, junto con la tinción DCFH-DA ya descrita, al medio que contenía los embriones se le adicionaron, además, 10 μM de la tinción Cell Tracker Blue® y se siguieron los mismos pasos posteriores. En este caso se utilizó un filtro UV de 405 nm. A mayor intensidad de fluorescencia, se consideró cualitativamente la presencia de mayores niveles de GSH en los embriones.

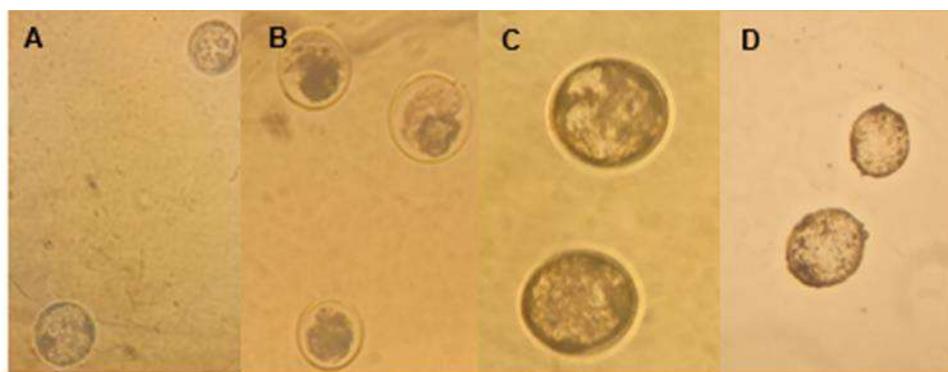
RESULTADOS

El resveratrol utilizado durante la MIV de ovocitos de ovino mostró un aumento en la tasa de maduración *in vitro* (MIV) a concentraciones de 0.5 y 1 μM , con diferencias significativas entre 0.25

y 1 μM ($p \leq 0.05$), siendo mayores en esta última. La tasa de DIV fue mayor en el grupo tratado con 1 μM de resveratrol vs. el grupo control ($p \leq 0.05$). La tasa de blastocistos no mostró diferencias estadísticas entre grupos ($p \geq 0.05$), pero a 0.25 μM de resveratrol se redujo. Los blastocistos tempranos que fueron vitrificados y desvitrificados, continuaron su desarrollo a blastocistos tardíos o eclosionados en todos los grupos tratados ($p \geq 0.05$) (Figura 1).

La evaluación cualitativa de los niveles de ERO, no mostró diferencias en los blastocistos tratados con resveratrol; mientras que la evaluación cualitativa de los niveles de GSH, mostró la presencia de esta enzima en todos los grupos tratados con resveratrol. Se evidencia que, conforme aumentan los niveles de GSH, disminuyen los niveles de ERO.

Figura 1. Blastocistos desvitrificados producidos por FIV a partir de ovocitos tratados con resveratrol.



A. 0 μM de resveratrol (blastocistos expandidos); B. 0.25 μM de resveratrol; C. 0.5 μM de resveratrol (blastocistos expandidos); D. 1 μM de resveratrol (blastocistos eclosionados). A; B; D: Aumento 10 X. C. Aumento 20 X.

CONCLUSIONES

El resveratrol se ha utilizado durante la MIV de ovocitos en especies como los porcinos, bovinos, ovinos y caprinos, ya que aumenta la concentración de glutatión reducido (GSH) dentro del ovocito, disminuyendo así la producción de ERO y aumentando la tasa de blastocistos. Su uso durante el cultivo *in vitro* de embriones ha generado un efecto positivo en el DIV y un aumento en la criotolerancia de blastocistos (Salzano *et al.*, 2014).

El resveratrol adicionado al medio de MIV a concentraciones de 0.25 y 0.5 μM , aumenta la segmentación y la tasa de blastocistos (Kwak *et al.*, 2012; Mukherjee *et al.*, 2018). Datos similares a los aquí obtenidos, en donde las mayores tasas de segmentación embrionaria y de blastocitos se evidenciaron a concentraciones de 0.5 y 1 μM de resveratrol (68.6 y 69.2%).

Respecto al GSH, es el principal componente sulfhídrico no proteico en las células de mamíferos que las protege del daño oxidante, regulando el balance redox intracelular (Battin y Brumaghim, 2009). Puede jugar además un papel importante en procesos biológicos tales como la síntesis de ADN y proteínas, y la proliferación celular durante el desarrollo embrionario (De Matos *et al.*, 2002). En este trabajo se observó cualitativamente que sus niveles aumentan conforme se aumentan las concentraciones de resveratrol.

Por otro lado, la vitrificación genera estrés oxidante, pero en este estudio se observó que el resveratrol, a la vez de incrementar los niveles de GSH, reduce los niveles de ERO en los embriones posterior a su vitrificación. Ello se vio reflejado en la capacidad de desarrollo embrionario post vitrificación observado en este trabajo (64% a 1 μ M de resveratrol), aunque este resultado fue menor a lo reportado por González (2020) de 72.6%.

Se concluye que el resveratrol utilizado durante la MIV tiene un efecto positivo en la presencia de GSH, lo que disminuye la presencia de ERO en embriones de ovino producidos por FIV posterior a su vitrificación.

BIBLIOGRAFÍA

1. E.E. Battin, J.L. Brumaghim. "Antioxidant activity of sulfur and selenium: A review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms". *Cell Biochem Biophys*, Vol. 55, 1, 2009, pp. 1–23.
2. D.G. De Matos, B. Gasparrini, S.R. Pasqualini, J.G. Thompson. "Effect of glutathione synthesis stimulation during in vitro maturation of ovine oocytes on embryo development and intracellular peroxide content". *Theriogenol.* 57, 5, 2002, pp. 1443– 1451
3. J. J. Giraldo. "Efecto del crioprotector dimetilformamida sobre la viabilidad de embriones bovinos producidos in vitro". Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia, 2011.
4. D. F. González Mendoza. "Efecto del protocolo de vitrificación y sistemas de empaque sobre la tasa de supervivencia de embriones ovinos obtenidos in vivo". Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia, 2020.
5. Y. Filipiak, C.Larocca, M. Martínez. "Comportamiento del Semen Bovino Sexado Congelado-Descongelado en Fertilización in vitro (FIV) Capacitado Mediante BO en dos Concentraciones versus Percoll". *Int. J. Morphol.*, Vol. 35, 4, 2017, pp.1337-1341.
6. S.S. Kwak, S.A. Cheong, Y. Jeon, E Lee, K.C. Choi, E.B. Jeung. "The effects of resveratrol on porcine oocyte in vitro maturation and subsequent embryonic development after parthenogenetic activation and in vitro fertilization". *Theriogenol.* Vol. 78, 2012, pp. 86–101. doi: 10.1016/j.theriogenology.2012.01.024.
7. R. I. Parra Cortés, M. Valderrama Rodas, G. Martínez Correal. "Situación actual y perspectivas de la ganadería de bovinos Criollos en América Latina". *Arch. Latinoam. Produc. Anim.* Vol. 29, 2021, pp.3-4. <http://www.doi.org/10.53588/alpa.293401>.
8. J. L. Rodríguez Suástegui, S. D. Romo García, E. Casas Hernández, J. E. Hernández Pichardo "Desarrollo de mórulas de ovino en medio simple o secuencial: relación entre evaluación morfológica y viabilidad embrionaria". *Rev. Salud Anim.* Vol. 39, 1, 2017, pp. 9-18.
9. E. Salgado-Cruz y R. Lopera-Vásquez. "Aspectos esenciales sobre las técnicas de fertilización in vitro en bovinos". *Rev. Invest. Vet. Perú*, Vol. 31, 3, 2020, pp. 17138. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.17138>
10. J.L. Martínez Ibarra, E.A. Espinoza Mendoza, R Rangel Santos, D.A. Ambriz-García, M.C. Navarro-Maldonado. "Effect of resveratrol on the in vitro maturation of ovine (*Ovis aries*) oocytes and the subsequent development of handmade cloned embryos". *Vet. Méx. OA*, Vol. 5, 4, 2019. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2018.4.491>
11. S. Madrid Gaviria, A. López Herrera, R. Urrego, G. Restrepo Betancur, J. J. Echeverri Zuluaga. "Effect of resveratrol on vitrified in vitro produced bovine embryos: Recovering the initial quality". *Cryobiol.* Vol. 89, 2019, pp. 42-50.
12. A. Mukherjee, H. Malik, A.P. Saha, A. Dubey, D.K. Singhal, S, Boateng. "Resveratrol treatment during goat oocytes maturation enhances developmental competence of parthenogenetic and hand-made cloned blastocysts by modulating intracellular glutathione level and embryonic gene expression". *J. Assist. Reprod. Genet.*, Vol. 31, 2014, pp. 229–239. doi: 10.1007/s10815-013-0116-9.

13. T. Nadri, A. Towhidi, S. Zeinoaldini, G. Riazi, M. Sharafi, M. Zhandi, J. Kastelic, D. Gholami “Supplementation of freezing medium with encapsulated or free glutathione during cryopreservation of bull sperm”. **Reprod Domest Anim.** **2022**, **57(5):515-523**. doi: **10.1111/rda.14088**.
14. A. Salzano, G. Albero, G. Zullo, G. Neglia, A. Abdel-Wahab, G. Bifulco. “Effect of resveratrol supplementation during culture on the quality and cryotolerance of bovine in vitro produced embryos”. *Anim. Reprod. Sci.*, Vol. 151, 3–4, 2014, pp. 91–96.
15. M. H. Bhat, V. Sharma, F. A. Khan, N. A. Naykoo, S. H. Yaqoob, G. Vajta, H. M. Khan, M. R. Fazili, N. A. Ganai, R. A. Shah. “Open pulled straw vitrification and slow freezing of sheep IVF embryos using different cryoprotectants”. *Reprod. Fertil. Dev.*, Vol. 27, 8, 2015, pp.1175-80. doi: 10.1071/RD1402
16. A. Zabihi, H. Karami Shabankareh, H. Hajarian, S. Foroutanifar. “In vitro maturation medium supplementation with resveratrol improves cumulus cell expansion and developmental competence of Sanjabi sheep oocytes”. *ELSEVIER. Livestock Science*, 2021, 243 - 104378. Doi <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.10437>
17. G. Vajta, “Vitrification of the oocytes and embryos of domestic animals”. *Anim. Reprod. Sci.*, Vol. 60, 61, 2000, pp. 357–364.

CARACTERIZACIÓN DE QUERATINAS OBTENIDAS DE HONGOS AISLADOS DE RESIDUOS DEL PELAMBRE EN UNA INDUSTRIA CURTIDORA EN LEÓN, GTO

Lizeth Esmeralda Ramírez-Villanueva, Martín Barajas-Segoviano, Gustavo Hernández-Mendoza, Luis Ángel Xoca-Orozco, José de Jesús Flores Sierra y Raúl Reyes-Bautista²

Tecnológico Nacional de México/ITS Purísima del Rincón. Blvd. del Valle No. 2301, Guardarrayas, C.P. 36413, Purísima del Rincón, Guanajuato, México.

raul.rb@purisima.tecnm.mx

RESUMEN

El aislamiento y selección de microorganismos con actividad queratinolítica representa hoy en día una alternativa al problema que tiene la disposición de residuos sólidos derivados de diversas industrias entre las que se encuentran la curtidora, la procesadora avícola entre otras. El material queratinoso al ser clasificado como recalcitrante por su baja o nula degradación a través del tiempo, hacen que sea objeto de estudio al buscar alternativas que puedan degradar la queratina contenido en los residuos antes mencionados. Por lo que el objetivo principal del presente proyecto fue caracterizar enzimas con actividad queratinolítica de hongos aislados de vertederos encontrados en una industria curtidora en León Gto. Se encontraron tres cepas fúngicas (H7, H8 y H9), las cuales presentaron una actividad queratinasa de 35.4, 65.43 y 24.1 U/mL, respectivamente. La queratinasa de H8 presentó un peso molecular de 80 kDa, y presentó una fuerte actividad inhibitoria para PMSF pudiéndola clasificar como una proteasa de la familia de las serin proteasas, se encontró que dentro de los agentes reductores para la proteasa de H8 el β -ME aumento la actividad un 35% y el ion que afecto de manera significativa ($p < 0.05$) la actividad de la enzima fue el Hg^{2+} , debido principalmente al efecto quelante de la proteína.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el aumento gradual de la demanda de cuero es responsable del aumento en el número de unidades de curtido cada año. En consecuencia, el tratamiento de los efluentes de las curtiembres a granel (20–30 m³ por tonelada de procesamiento de cuero/piel en bruto) para mantener el límite de descarga se está convirtiendo en un desafío crítico [1]. Se supone que una tonelada de pieles en bruto produce alrededor de 200 kg de cuero, mientras que el restante 80 % del peso inicial son desechos posteriores a la producción, principalmente en forma sólida [2]. Los desechos sólidos consisten en cabello, recortes, carne, queratina [3].

Alrededor de 6.6 millones de toneladas de pieles crudas de animales bovinos y 0.8 millones de toneladas de pieles de animales ovinos se convierten en cuero mundial cada año [4]. Después de realizar el proceso de curtido en las pieles de animales bovinos el residuo sólido más importante es una pulpa de pelo. A nivel mundial, las curtiembres generan pieles bovinas curtidas las cuales solubilizan y descargan anualmente alrededor de 0.2 millones de toneladas de pelo junto con las aguas residuales. Los residuos de la pulpa de pelo resultan en un alto contenido de DBO y DQO en las aguas residuales [5]. Alrededor de 15 millones de kg de DBO y 54 millones de kg de DQO se aportan anualmente debido al proceso pelambre. Alrededor de 56 kilotonnes de desechos de cabello se generan anualmente de las curtiembres que producen cueros de pieles ovinas. Este desperdicio de pelo se vierte en el suelo o se elimina en vertederos [6]. La eliminación de desechos ricos en queratina como el cabello y las plumas es un problema ambiental global que conduce a la contaminación del aire y la contaminación de los recursos hídricos [7].

En la naturaleza, la queratina es el tercer polímero más abundante después de la celulosa y la quitina. Es una proteína fibrosa presente en una amplia gama de organismos, incluidos mamíferos, reptiles, aves y peces. La queratina se encuentra en una variedad de componentes estructurales externos de animales como piel, pelo, plumas, cuernos, pezuñas, clavos, uñas y picos [8]. Las queratinasas son proteasas especiales que atacan a los sustratos de queratina insolubles, duros y duraderos. Son enzimas robustas que muestran una gran diversidad en sus características bioquímicas. Se distinguen de las proteasas convencionales debido a su amplia especificidad de sustrato hacia una variedad de sustratos insolubles, ricos en queratina, que incluyen plumas, lana, uñas y cabello [9].

Todas estas proteínas recalcitrantes están compuestas principalmente por "queratina". La queratina es una proteína estructural que está fuertemente estabilizada por varias interacciones hidrófobas y puentes de hidrógeno, además de poseer enlaces disulfuro. Sobre la base de la conformación estructural secundaria, se ha clasificado en α (hélice α : de pelo, uñas y lana) y β (láminas β : de plumas) queratina [10]. La gran cantidad de enlaces entrecruzados resultantes de los puentes disulfuro dentro de los residuos de queratina le proporcionan una alta estabilidad mecánica y resistencia a la degradación por proteasas convencionales como la tripsina, la pepsina y la papaína [11], [12]. La naturaleza resistente de la queratina se debe a que forma parte de una clase de proteínas llamadas escleroproteínas, caracterizadas por la formación de largos filamentos de cadenas entrelazadas, lo cual confiere características estructurales [13]. El papel principal de la queratina es prevenir la pérdida de fluidos corporales de humanos y animales mediante la formación de una cubierta externa de los órganos animales y humanos [14], [15].

TEORÍA

El proceso de curtido consta de cuatro etapas: 1) Preparación, 2) Ribera, 3) Curtido y 4) Acabado [16].

- Etapa de ribera. Es la etapa donde se recibe el cuero, el cual tiene como objetivo realizar una serie de procesos para realizar una limpieza profunda de la piel y eliminar todos los componentes que no son transformados en cuero, tal como el estiércol, pelo, suciedades y la endodermis.
- Etapa curtido. En esta etapa se estabiliza la proteína del cuero para evitar su putrefacción. En este proceso se agregan curtientes vegetales o sales minerales, principalmente sales de sulfato básico de cromo $\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$. Estas sales crean enlaces químicos covalentes coordinados entre el cromo y la piel transformándola en cuero, adquiriendo la piel propiedades de resistencia a las altas temperatura, a la humedad y al ataque bacteriano.
- Etapa de Recurtido, Teñido y Engrase (RTE). En esta etapa se suministran ciertas sales, en general de cromo, y productos recurtientes para uniformizar el curtido y proporcionar las características del producto final, también se adicionan aceites para mejorar sus propiedades físicas y suavidad. Algunas propiedades que se mejoran en este proceso son: tacto, firmeza, resistencia al sudor, capacidad de teñido, entre otras.
- Etapa de acabado. Esta etapa final consiste en conferirle al cuero características de color, tacto, textura y resistencia al ambiente para cumplir con requerimientos específicos del mercado mediante la aplicación de resinas, ceras, rellenantes, tectos, pigmentos, anilinas, plastificantes, disolventes, entre otros, a pistola, en máquina de rodillos, en cortina o en forma manual con felpa.

Degradación enzimática de la queratina

Las queratinasas son un grupo de enzimas hidrolíticas que pueden catalizar la degradación de la queratina. Estas enzimas queratinolíticas son secretadas por diferentes tipos de microorganismos que se encuentran en el suelo, el agua y en diversas fuentes ricas en queratina. Hasta la fecha, mediante el uso de diferentes ensayos se ha demostrado que las enzimas queratinolíticas son

producidas tanto por bacterias como por hongos [17]. Las queratinasas microbianas generalmente se secretan en el medio cuando el microorganismo se cultivó en un medio que contenía queratina.

Hongos con actividad queratinolítica

Los microorganismos queratinofílicos se han convertido en objeto de interés científico por su capacidad para biosintetizar queratinasas específicas y su aplicación prospectiva en la gestión de residuos queratínicos [18]. Son aquellos microorganismos capaces no sólo de colonizar sino también degradar la queratina gracias a la capacidad de estos de producir enzimas proteolíticas específicas llamadas queratinasas. Han sido aislados en ambientes tan extremos como suelos antárticos y aguas termales, incluyendo ambientes aeróbicos como anaeróbicos, y entre ellos se encuentran bacterias, hongos y actinomicetos [19]. La supervivencia de las especies de hongos queratinofílicos está influenciada por materia orgánica oxidable además de los agentes bióticos (pH, nutrientes, humedad y sales) y abióticos (temperatura, luz, clima y altitud) que propician las condiciones necesarias para su adaptabilidad.

PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento primario de hongos derivados de residuos del proceso del pelambre.

Las muestras consideradas como desecho industrial del proceso del pelambre fueron utilizadas como fuente de microorganismos con actividad queratinolítica. Con ayuda de pinzas se tomaron porciones de pelo los cuales se colocaron en cajas Petri conteniendo una capa de sanitas y se incubaron a 28 °C. Los hongos crecidos, se sembraron en medio PDA con 0.01 gL⁻¹ de ampicilina. Posteriormente, las cajas Petri se incubaron a 28°C. Una vez aislados los hongos, se procede a su cultivo en caldo PDB y se incubaron en agitación a 120 rpm, hasta observar crecimiento.

Selección secundaria de hongos con actividad queratinolítica

La actividad de queratinasa se determinó utilizando como sustrato de queratina de pluma. Se incubará el sustrato de queratina de pluma (0.5 mg) en 750 ml de tampón de fosfato, pH 7.8, con 500 µl de sobrenadante del cultivo durante 1 h a 37 °C. La reacción enzimática se detendrá mediante la adición de 1.0 ml de ácido tricloroacético al 10%. Los tubos se centrifugarán durante 15 min a 2500 g en condiciones de refrigeración (4 °C) y se medirá la absorbancia en el sobrenadante a 280 nm. Donde una unidad de actividad queratinolítica será la cantidad de enzima que cause un cambio de absorbancia de 0.01 a 280 nm.

Electroforesis SDS PAGE

Para la determinación de los pesos moleculares de las proteínas incluidas en el extracto crudo enzimático de la bacteria. Se realizó el ensayo de SDS-PAGE con el paquete Mini-PROTEAN Tetra Cell utilizando geles al 12% de poliacrilamida en el gel separador y 4% en el gel concentrador, en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS). Llevándose a cabo la corrida con un voltaje de 200 V durante 45 minutos a temperatura ambiente. Los geles se tiñeron con una solución al 0.1 % p/v de nitrato de plata.

Actividad queratinolítica

La actividad queratinolítica fue medida usando el protocolo modificado de [20] con keratin azure como sustrato. La reacción enzimática se realizó haciendo una mezcla que contenía 200 µl de enzima, separada a partir del extracto crudo y 800 µl de una solución al 0.4 % (w/v) de keratin azure k-8500 (Sigma) en un buffer 10 mM de Tris – HCL (pH 8.5), se incubó a 45°C durante 1 hora. La reacción fue detenida con 500 µl de una solución de una solución al 0.1 M TCA (ácido tri-cloroacetico)

diluido en Tris-HCL (pH 8.0) al 0.1 M, y se centrifugó a 16000 g durante 20 minutos. El sobrenadante fue medido a 595 nm por liberación de Aminoácidos. La cuantificación se determinó a partir de una curva estándar de tirosina.

Efecto de los inhibidores y iones metálicos

Se añadieron productos químicos a las preparaciones de enzimas y se incubaron durante 10 min a 25 C antes de analizar la actividad proteolítica. Los inhibidores de proteasa PMSF, EDTA, 1,10-fenantrolina y β - ME y los detergentes SDS, Tween 80 y Triton X-100. El efecto de los iones metálicos sobre la actividad de la proteasa se investigó utilizando una concentración de 5 mM (concentración de trabajo). Las soluciones madre de metal se prepararon en agua destilada y se diluyeron a las concentraciones apropiadas. La solución de enzima se mezcló con las diferentes soluciones de metales y se preincubó durante 10 min a 25 °C antes del ensayo. También se incluyó un control donde la enzima se mezcló con agua destilada en lugar de una solución de metal. Se consideró que la actividad de control era del 100%.

RESULTADOS

Los hongos que presentaron mayor actividad queratinolítica medida con Keratine Azure fueron los hongos: H7, H8 y H10 encontrándose valores de 35.4, 65.43 y 24.1 U/mL, respectivamente. Dentro de la caracterización bioquímica aplicada a las queratinas utilizando electroforesis SDS-PAGE (Fig. 1), fueron las siguientes: 45 kDa (H7), 89 kDa (H8) y 25 kDa (H10), el pH óptimo de todas las queratinasas se encontraba en 9.

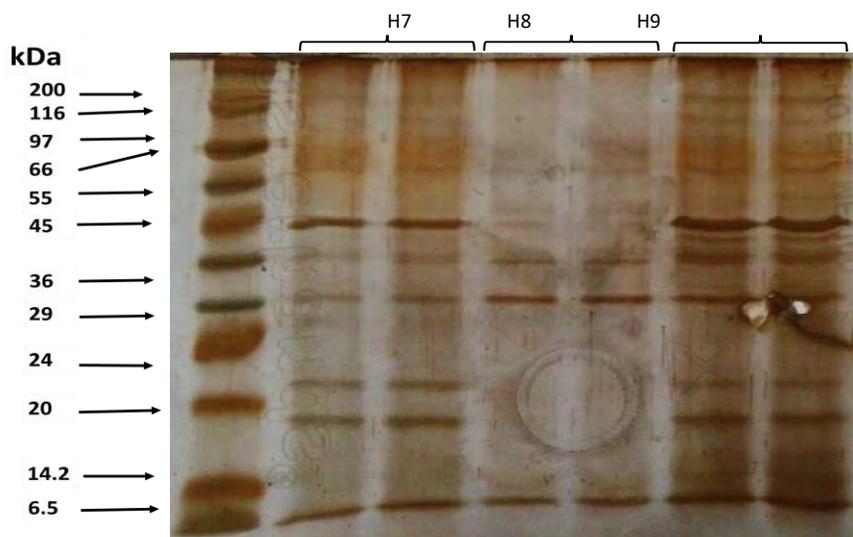


Figura 1. Perfil electroforético SDS-PAGE (12%) de las queratinasas de los hongos aislados H7, H8 y H10.

Se caracterizó de la actividad de las queratinasas mediante el uso de inhibidores de proteasas (Tabla 1), así como compuestos químicos. Se encontró que el PMSF redujo significativamente ($p < 0.05$) la actividad residual de la enzima (5.14%), se encontró que el agente reductor β -mercaptoetanol fue el compuesto químico que aumento la actividad residual en un 35% ($p < 0.05$), y el compuesto que redujo la actividad al mínimo (18.57%) fue el Cloruro de Mercurio (HgCl_2) esto debido a la interacción del metal pesado con la estructura proteínica de la enzima.

Tabla 1. Efecto de inhibidores de proteasa, iones y productos químicos sobre la actividad proteolítica de las cepas H7, H8 y H9

Sustrato	Concentración	Actividad residual (%)		
		H7	H8	H9
Ninguno	Control	100		
PMSF	1 mM	1.25	5.14	0.26
EDTA	5 mM	89.25	78.25	85.64
1,10-fenantrolina	5 mM	56.85	85.68	61.74
Triton X-100	1 mM	78.15	88.97	80.25
Tween 80	2.5 mM	59.56	101.1	65.98
β - ME	5 mM	105.64	135.71	112.36
SDS	0.5 % (p/v)	85.97	102.74	71.65
Sulfito de sodio	0.1 % (p/v)	101.35	118.76	125.64
BaCl_2	5 mM	15.67	38.75	12.31
MgCl_2	5 mM	25.15	72.03	11.64
HgCl_2	5 mM	9.19	18.57	2.56

CONCLUSIONES

Se encontró actividad queratinolítica en 4 especies de hongos filamentosos que podrían tener gran importancia biotecnológica al ser utilizados para degradar materiales queratinosos generados por la industria curtidora y así ser utilizados para la formulación de compuestos ricos en nitrógeno, materias primas para industria cosmética, utilizados para la generación de biocombustibles, generación de principios farmacéuticos, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] K. Roy, T. K. Dey, M. Jamal, R. Rathanasamy, M. Chinnasamy, and M. E. Uddin, "Fabrication of graphene oxide–keratin–chitosan nanocomposite as an adsorbent to remove turbidity from tannery wastewater," *Water Science and Engineering*, 2023, doi: 10.1016/j.wse.2022.12.003.
- [2] A. Kowalik-Klimczak *et al.*, "Application of an Integrated System of Thermal Pressure Hydrolysis/Membrane Techniques to Recover Chromium from Tannery Waste for Reuse in Hide Tanning Processes," *Membranes (Basel)*, vol. 13, no. 1, p. 18, Dec. 2022, doi: 10.3390/membranes13010018.
- [3] D. S. Stefan, M. Bosomoiu, R. R. Constantinescu, and M. Ignat, "Composite polymers from leather waste to produce smart fertilizers," *Polymers*, vol. 13, no. 24. MDPI, Dec. 01, 2021. doi: 10.3390/polym13244351.
- [4] FAO, *World statistical compendium for raw hides and skins, leather and leather footwear Intergovernmental Group on Meat and Dairy Products Sub-group on Hides and Skins A Subsidiary Body of the FAO Committee on Commodity Problems (CCP)*. 1999. [Online]. Available: www.fao.org/publications
- [5] P. Thanikaivelan, J. R. Rao, B. U. Nair, and T. Ramasami, "Zero Discharge Tanning: A Shift from Chemical to Biocatalytic Leather Processing," *Environ Sci Technol*, vol. 36, no. 19, pp. 4187–4194, Oct. 2002, doi: 10.1021/es025618i.
- [6] S. R. Thankaswamy, S. Sundaramoorthy, S. Palanivel, and K. N. Ramudu, "Improved microbial degradation of animal hair waste from leather industry using *Brevibacterium luteolum* (MTCC 5982)," *J Clean Prod*, vol. 189, pp. 701–708, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.04.095.
- [7] Z. Fang, Y.-C. Yong, J. Zhang, G. Du, and J. Chen, "Keratinolytic protease: a green biocatalyst for leather industry," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 101, no. 21, pp. 7771–7779, Nov. 2017, doi: 10.1007/s00253-017-8484-1.
- [8] S. G. Bodde, M. A. Meyers, and J. McKittrick, "Correlation of the mechanical and structural properties of cortical rachis keratin of retrices of the Toco Toucan (*Ramphastos toco*)," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 4, no. 5, pp. 723–732, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.jmbbm.2011.01.010.
- [9] R. Gupta and P. Ramnani, "Microbial keratinases and their prospective applications: an overview," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 70, no. 1, pp. 21–33, Mar. 2006, doi: 10.1007/s00253-005-0239-8.
- [10] P. L. Pedersen, "Biochemistry, 2nd edit., edited by Donald Voet and Judith G. Voet. New York: Wiley, 1995, 1392 pages, \$86.95," *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, vol. 23, no. 4, pp. 613–613, Dec. 1995, doi: 10.1002/prot.340230421.
- [11] Z. K. Bagewadi, S. I. Mulla, and H. Z. Ninnekar, "Response surface methodology based optimization of keratinase production from *Trichoderma harzianum* isolate HZN12 using chicken feather waste and its application in dehairing of hide," *J Environ Chem Eng*, vol. 6, no. 4, pp. 4828–4839, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.jece.2018.07.007.
- [12] A. Gegeckas, A. Šimkutė, R. Gudiukaitė, and D. J. Čitavičius, "Characterization and application of keratinolytic paptidases from *Bacillus* spp.," *Int J Biol Macromol*, vol. 113, pp. 1206–1213, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.046.
- [13] B. Srivastava, M. Khatri, G. Singh, and S. K. Arya, "Microbial keratinases: An overview of biochemical characterization and its eco-friendly approach for industrial applications," *J Clean Prod*, vol. 252, p. 119847, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.119847.
- [14] S. E. Tork, Y. E. Shahein, A. E. El-Hakim, A. M. Abdel-Aty, and M. M. Aly, "Purification and partial characterization of serine-metallokeratinase from a newly isolated *Bacillus pumilus* NRC21," *Int J Biol Macromol*, vol. 86, pp. 189–196, May 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.060.
- [15] S. Hamiche *et al.*, "Purification and biochemical characterization of two keratinases from *Bacillus amyloliquefaciens* S13 isolated from marine brown alga *Zonaria tournefortii* with potential keratin-biodegradation and hide-unhairing activities," *Int J Biol Macromol*, vol. 122, pp. 758–769, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.174.

- [16] V. Hernández López, "EXTRACCIÓN DEL CROMO DE VIRUTAS DE CUERO PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA DEL CURTIDO MEDIANTE HIDRÓLISIS ALCALINA EN UN TAMBOR DE CURTIDO.," 2021.
- [17] J. Qiu, C. Wilkens, K. Barrett, and A. S. Meyer, "Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function," *Biotechnology Advances*, vol. 44. Elsevier Inc., Nov. 15, 2020. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107607.
- [18] W. Laba, A. Choinska, A. Rodziewicz, and M. Piegza, "Keratinolytic abilities of micrococcus luteus from poultry waste," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 46, no. 3, pp. 691–700, Jul. 2015, doi: 10.1590/S1517-838246320140098.
- [19] I. A. Cavello, R. A. Hours, and S. F. Cavalitto, " Bioprocessing of 'Hair Waste' by Paecilomyces lilacinus as a Source of a Bleach-Stable, Alkaline, and Thermostable Keratinase with Potential Application as a Laundry Detergent Additive: Characterization and Wash Performance Analysis ," *Biotechnol Res Int*, vol. 2012, pp. 1–12, Dec. 2012, doi: 10.1155/2012/369308.
- [20] J. L. Giongo, F. S. Lucas, F. Casarin, P. Heeb, and A. Brandelli, "Keratinolytic proteases of Bacillus species isolated from the Amazon basin showing remarkable de-hairing activity," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 23, no. 3, pp. 375–382, Feb. 2007, doi: 10.1007/s11274-006-9234-1.

USO DE UNA COMPOSTA ADICIONADA CON PLASMA BOVINO EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE JITOMATE

Tarsicio Medina Saavedra¹, Lilia Mexicano Santoyo¹, Gabriela Arroyo Figueroa¹, Natalia Martínez Ayala¹ y Victoria Machuca Jiménez¹

¹Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Guanajuato, Privada Arteaga s/n, Col. Centro, C.P.38900, Salvatierra, Gto.

RESUMEN

Un adecuado uso y manejo de residuos orgánicos como la sangre de bovino puede reducir la contaminación en el medio ambiente. Una alternativa de uso es la producción de abono orgánico, que se puede utilizar como mejorador de la fertilidad del suelo, además de que la sangre de bovino figura en la lista de productos permitidos para la producción orgánica. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del bocashi adicionado con sangre de bovino al 10% y 20% en semillero para la obtención de plántulas de jitomate. Los tratamientos aplicados consistieron en: 90% peat moss + 10% bocashi (T1), 80% peat moss + 20% bocashi (T2), 100% arena como alternativa de sustrato (T3), y 100% peat moss (T4) antes de la siembra. El bocashi se elaboró utilizando estiércol, paja molida, salvado, ceniza, melaza, suelo arcilloso y sangre de bovino mediante fermentación anaerobia con humedad y temperatura controlada. Se utilizaron 25 semillas por tratamiento. Después de que emergieran las plántulas se midieron las variables altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas y longitud de la raíz. Los resultados muestran que el menor diámetro de tallo y el menor número de hojas se obtuvo con T3, por otra parte, no se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos T1, T2 y T4. En cuanto a la altura de la plántula, el T1 fue el mejor, siendo estadísticamente diferente en comparación a los demás tratamientos aplicados. De acuerdo con los resultados obtenidos, se sugiere que el mejor tratamiento para ser aplicado en semillero es T1, ya que con este tratamiento se logró un efecto positivo en todas las variables evaluadas.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existen importantes avances científicos y tecnológicos sobre la mejora de sistemas agrarios en todo el mundo (Benzing, 2001); sin embargo, la sostenibilidad e inocuidad de los alimentos son motivo de preocupación para productores y consumidores, quienes exigen de modo creciente acceso a productos que contribuyan a una alimentación sana y nutritiva (FAO, 2000). Por esto la tendencia global del manejo de estos sistemas, demanda conocimientos básicos de los recursos, tales como el manejo de los abonos orgánicos aplicados al suelo (Ramos et al, 2014). Una alternativa de uso es la producción de abono orgánico (Medina et al, 2010), tienen gran importancia económica, social y ambiental al reducir los costos de producción de los diferentes cultivos, asegurando una producción de buena calidad para la población, mitigando la contaminación de los recursos generales en general y se puede utilizar como mejorador de la fertilidad del suelo (Murillo-Amador et al, 2015; Castro, 2018; Ramos et al, 2014). En este sentido, el Bocashi es un abono orgánico fermentado que incorpora al suelo materias orgánicas y nutrientes esenciales como, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, cobre y boro; los cuales, mejoran las condiciones físicas y químicas del suelo (Ramírez y Naidu, 2010). Estos abonos fermentados tienen como objetivo estimular la vida microbiana del suelo y la nutrición de las plantas (Medina et al, 2010). Por otro lado, la sangre es un bioactivador en la elaboración de abonos orgánicos debido a su alto contenido de nitrógeno, potasio y fosforo lo que ayuda a la estimulación de la proliferación de microorganismos, que a su vez ayudarán a aumentar la aceleración de la descomposición del abono y la calidad de este (Yunta et al, 2020). El objetivo de este trabajo fue

determinar el efecto del bocashi adicionado con sangre de bovino al 10% y 20% en semillero para la obtención de plántulas de jitomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del abono tipo bocashi y adición del plasma bovino.

Para la elaboración del abono se utilizaron los siguientes insumos: rastrojo, ceniza, estiércol, salvado de trigo, agua y sangre de bovino. Primeramente, se mezclaron todos los insumos secos. A la par se disolvió la sangre de bovino en agua para ser incorporada a la mezcla hasta obtener una humedad aproximada de 40-50%, realizando la prueba del puño. Finalmente, el bocashi fue removido en un periodo de 15 días para controlar la temperatura y para la incorporación de oxígeno.

Aplicación de tratamientos

Para la aplicación de tratamientos se utilizó una charola de germinación de 100 cavidades. Se utilizaron 2 semillas de jitomate variedad saladette por cada cavidad. Los tratamientos aplicados fueron los siguientes: T1 compuesto por 90% peat moss + 10% bocashi adicionado con sangre de bovino, T2 compuesto por 80% peat moss + 20% bocashi adicionado con sangre de bovino, para el tratamiento T3 se utilizó como sustrato únicamente arena, y por último el tratamiento T4 compuesto 100% de peat moss. Se utilizaron 25 cavidades por tratamiento (se realizaron 3 repeticiones por tratamiento).

Después de que las plántulas emergieran se midieron las variables: altura de la plántula, diámetro del tallo y número de hojas durante un periodo de 8 semanas. Concluido el tiempo del experimento se midió la longitud de la raíz de cada una de las plántulas.

Análisis de los datos

Para el análisis de los datos se realizó un ANOVA utilizando el programa Excel y los datos se presentan como la media \pm desviación estándar

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra que el valor de diámetro de tallo de plántulas obtenidas con la aplicación de diferentes tratamientos en el semillero va incrementando gradualmente conforme transcurre el tiempo. Como se puede observar el menor diámetro de tallo en la última medición se observó con T3 (0.16 ± 0.01). El mayor diámetro de tallo final se encontró con los tratamientos T1 (0.24 ± 0.02), T2 (0.22 ± 0.02) y T4 (0.23 ± 0.03), siendo estos tratamientos estadísticamente iguales. Aguilar et al. (2016) reporta un mayor diámetro de tallo en plántulas de café al aplicar tratamientos con un abono tipo bocashi, mientras que Huerta y Cruz (2018) reportan que el mayor engrosamiento de tallo fue con compost ovino-turba en plántulas de geranio.

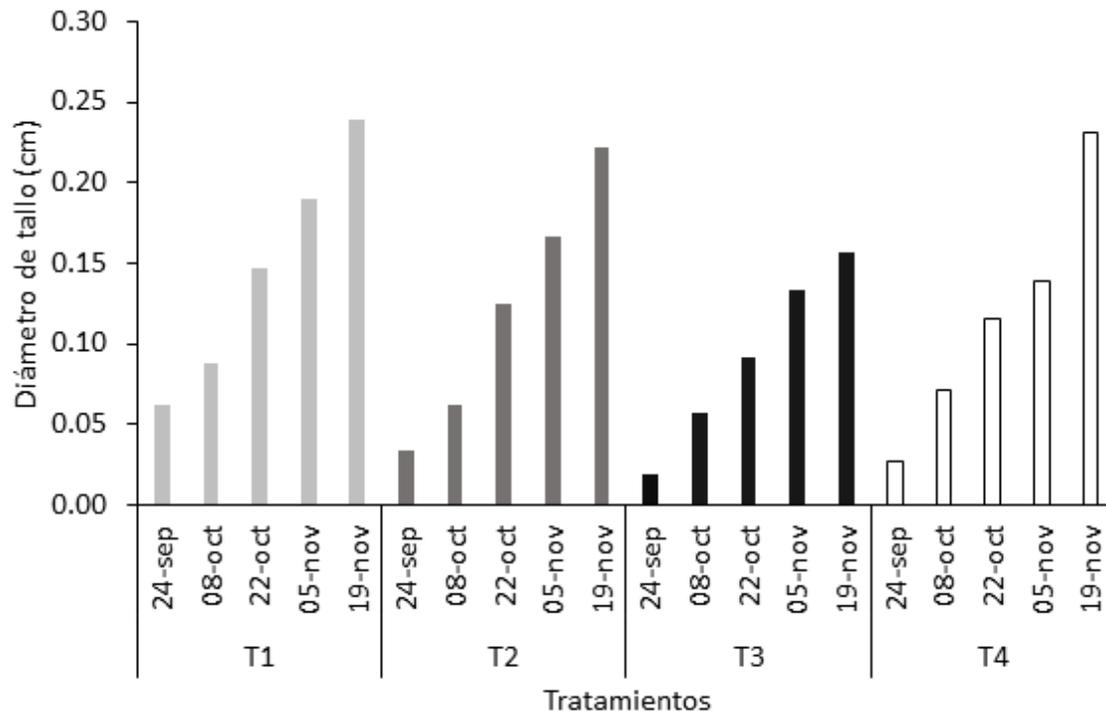


Figura 1. Diámetro de tallo en plántulas con tratamientos de: T1 compuesto por 90% peat moss + 10% bocashi adicionado con sangre de bovino, T2 compuesto por 80% peat moss + 20% bocashi adicionado con sangre de bovino, para el tratamiento T3 se utilizó como sustrato únicamente arena, y por último el tratamiento T4 compuesto 100% de peat moss.

Por otra parte, Castro et al (2009) relaciona estos resultados con los beneficios que ofrece el abono tipo bocashi al combinarse en proporciones experimentadas con el sustrato convencional, ya que aportan cantidades adecuadas de nutrimentos que favorecen el desarrollo de las plántulas, lo que sugiere que la aplicación de bocashi favorece al engrosamiento del tallo en las plántulas de tomate.

Para la variable de altura de la plántula se puede observar que el valor más alto se obtuvo con el tratamiento T1 (12.53 ± 0.74), seguido del tratamiento T2 (8.91 ± 0.56) y T4 (9.56 ± 0.62) (Figura 2). El valor más bajo se observó con T3 (7.41 ± 0.38). Lo que sugiere que T1 contribuye a la obtención de una mayor altura de la plántula.

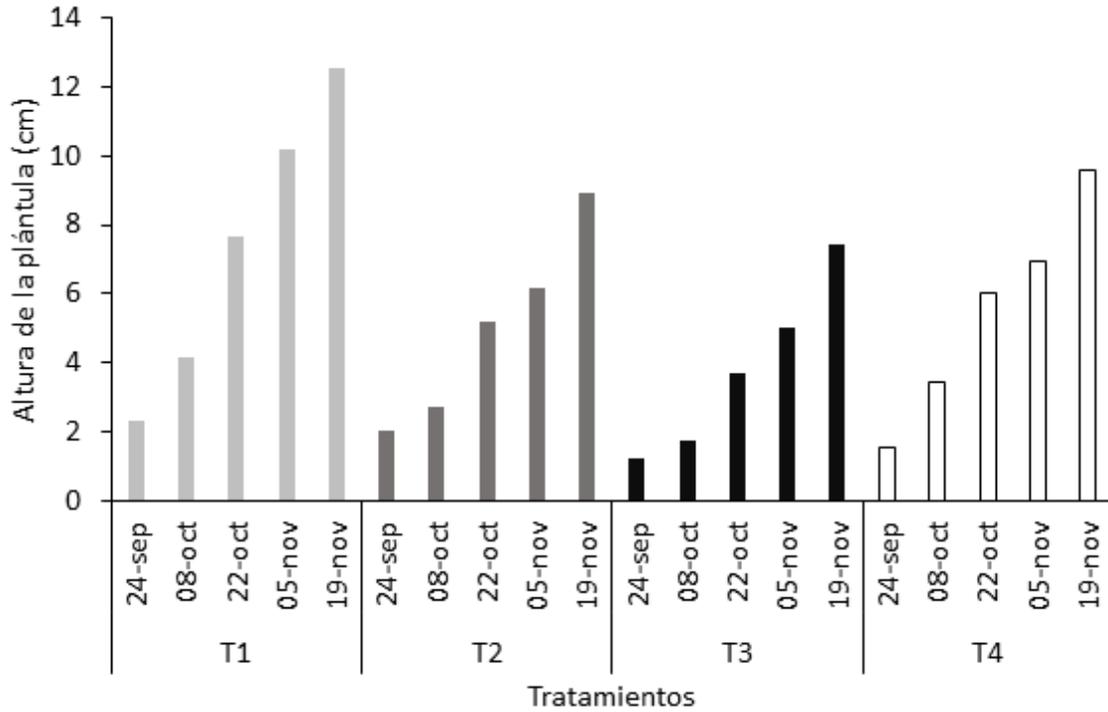


Figura 2. Altura de plántulas con tratamientos de: T1 compuesto por 90% peat moss + 10% bocashi adicionado con sangre de bovino, T2 compuesto por 80% peat moss + 20% bocashi adicionado con sangre de bovino, para el tratamiento T3 se utilizó como sustrato únicamente arena, y por último el tratamiento T4 compuesto 100% de peat moss.

En una investigación realizada por Sarmiento (2019) y Medina *et al.* (2016) reporta una mayor altura en plántulas de fresa al aplicar bocashi adicionado con microorganismos eficientes. Por otra parte, Ramos y Terry (2014) y Agüero *et al.* (2016) comentan que los abonos orgánicos favorecen el crecimiento y desarrollo de los cultivos, ya que pueden mejorar la estructura del suelo y aumentar la capacidad de retención de agua.

Finalmente, en la Figura 3 se presenta el número de hojas. Los resultados muestran que los tratamientos T1 (4.63 ± 0.62), T2 (5.0 ± 0.79) y T4 (5.0 ± 0.74) son estadísticamente iguales (con un promedio de 5 hojas), el menor número de hojas se obtuvo con el tratamiento T3 (3.5 ± 0.69).

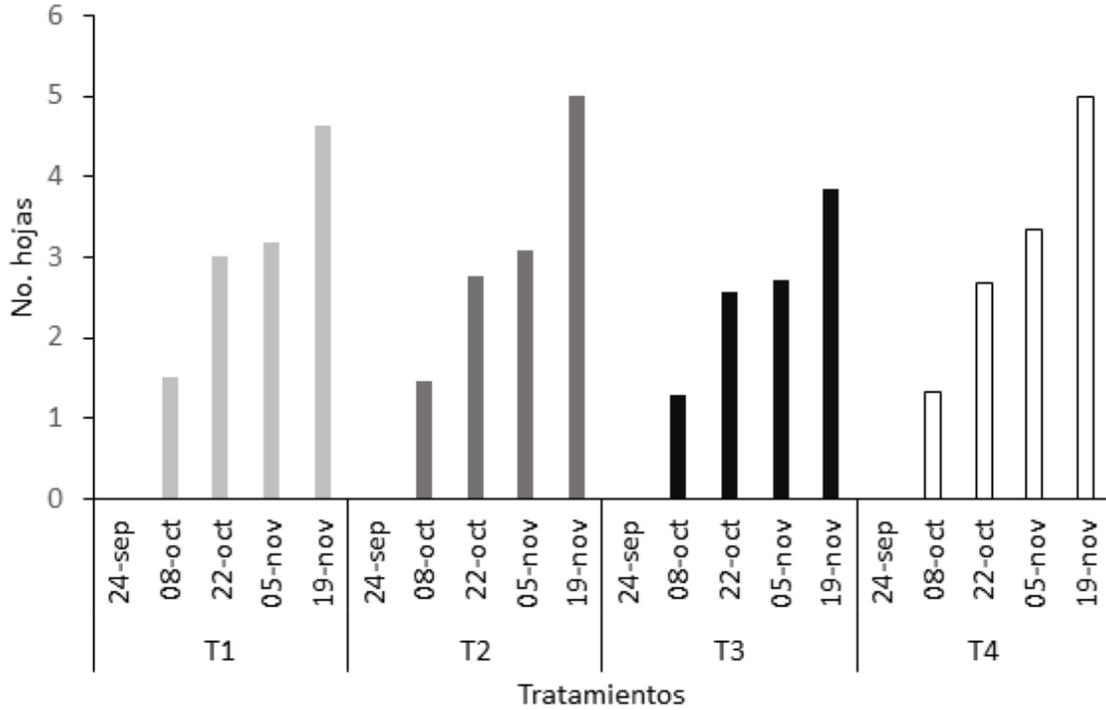


Figura 3. Número de hojas en plántulas con tratamientos de: T1 compuesto por 90% peat moss + 10% bocashi adicionado con sangre de bovino, T2 compuesto por 80% peat moss + 20% bocashi adicionado con sangre de bovino, para el tratamiento T3 se utilizó como sustrato únicamente arena, y por último el tratamiento T4 compuesto 100% de peat moss.

Ramos y Terry (2016), reportan los valores masaltos de esta variable al aplicar tratamientos con la combinación suelo, bocashi y fertilizante mineral. García-Gomez et al. (2002) y Grigatti et al. (2007) comentan que la respuesta a los tratamientos y proporciones usadas de abonos dependen de la especie vegetal en estudio. En este sentido, se sugiere que el bocashi podría activar los microorganismos y macroorganismos benéficos durante el proceso de fermentación favoreciendo al crecimiento y desarrollo de las plántulas.

CONCLUSIONES

El abono tipo bocashi es un insumo que puede ser utilizado en semillero, ya que, de acuerdo con los resultados obtenidos, se sugiere que el mejor tratamiento para ser aplicado en el semillero es el 10% de bocashi adicionado con sangre de bovino (T1), logrando un efecto positivo en todas las variables evaluadas.

BIBLIOGRAFÍAS

- Benzing, A. Agricultura Orgánica - fundamentos para la región andina. Neckar-Verlag. Villingen-Schwenningen, Alemania. 2001. 682 p.
- Castro, A. 2018. Ventajas y perspectivas de la certificación orgánica en el Perú. Tesis de título profesional, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. Perú. 61 pp.
- Castro, A., Henríquez, C. & Bertsch, F. (2009). Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. *Agronomía Costarricense, Revista de Ciencias Agrícolas*, 33(1), 31-43.
- FAO – Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2000. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Roma. 355 pp. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/017/x4400s/x4400s.pdf>
- García-Gómez, A., Bernal, M. P., & Roig, A. (2002). Growth of ornamental plants in two composts prepared from agroindustrial wastes. *Bioresource technology*, 83(2), 81-87.
- Grigatti M, Giorgioni ME, Ciavatta C. 2007. Compost-based growing media: Influence on growth and nutrient use of bedding plants. *Bioresource Technology* 98(18): 3526-3534.
- Huerta, E, Cruz, J. (2018). Efectos de los abonos orgánicos en el crecimiento de plantas de geranio y belén. *Acta agrícola y pecuaria*, 4 (2): 44-53.
- Liang, W /et al./ Nematode faunal to long-term application of nitrogen fertilizer and organic manure in northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, vol. 41, no. 5, p. 883-890.
- Medina, T, Arroyo, G, Martínez, I y Vargas, L. (2016). FERTILIZANTE ORGÁNICO BOCASHI EN GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE MEZQUITE (*Prosopis glandulosa*). *Ciencia y Tecnol. Agrop. México* Vol. 4 Núm. 2: 20-30.
- Medina, L; Monsalve, O; Forero, A. 2010. Aspectos prácticos para utilizar materia orgánica en cultivos hortícolas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 135: 109-125.
- Murillo-Amador, B; Morales-Prado, L; Troyo-Diéguez, E,; Córdoba-Matson, M,; Hernández-Montiel, L,; Rueda-Puente, E,; Nieto-Garibay, A. Chaging enviromental conditions and appliung organic fertilizers in *Origanum vulgare* L. *Frontiers in Plant Science* 6: 1- 15.
- Ramírez-Builes, V. H. y Naidu, D. N. Respuesta del lulo La Selva (*Solanum quitoense* x *Solanum hirtum*) a la aplicación de fermentados aeróbicos tipo Bocashi y fertilizante químico. *Acta Agronomica*, (2010), vol. 59, no. 2, p. 155-161.
- Ramos, D.; Terry, E. 2014. Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales* 115:52-59.
- Ramos, D.; Terry, E.; Soto, F.; Cabrera, A.; Martín, G.; Fernández, G. 2016. Respuesta del cultivo de plátano a diferentes proporciones de suelo y Bocashi, complementadas con fertilizante mineral en etapa de vivero. *Cultivos Tropicales* 174:165-174.
- Ramos Agüero, D., Terry Alfonso, E., Soto Carreño, F., & Cabrera Rodríguez, J. A. (2014). BOCASHI: ABONO ORGÁNICO ELABORADO A PARTIR DE RESIDUOS DE LA PRODUCCIÓN DE PLÁTANOS EN BOCAS DEL TORO, PANAMÁ. *Cultivos Tropicales*, 35(2),90-97.
- Ramos Agüero, D., Terry Alfonso, E., Soto Carreño, F., Cabrera Rodríguez, A., Martín Alonso, G. M., & Fernández Chuaerey, L. (2016). Respuesta del cultivo del plátano a diferentes proporciones de

suelo y Bocashi, complementadas con fertilizante mineral en etapa de vivero. *Cultivos Tropicales*, 37(2), 165-174.

Restrepo, J. (2010). A, B, C de la agricultura orgánica y panes de piedra: Abonos orgánicos fermentados. Managua: Feriva SA.

Sarmiento, G, Amezcua, M, Mitsu, L, (2019). Uso de bocashi y microorganismos eficaces como alternativa ecológica en el cultivo de fresa en zonas áridas. *Scientia Agropecuaria* 10(1): 55–61.

Felipe Yunta, Michele Di Foggia, Violeta Bellido-Díaz, Manuel Morales-Calderón, Paola Tessarin, Sandra López-Rayó, Anna Tinti, Krisztina Kovács, Zoltán Klencsár, Ferenc Fodor, and Adamo Domenico Rombolà (2020) Blood Meal-Based Compound. Good Choice as Iron Fertilizer for Organic Farming, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013 61 (17), 3995-4003

METALES NO ESENCIALES EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE CHILE JALAPEÑO

María de la Luz Buendía-Valverde¹, Libia I. Trejo-Téllez^{2*}, Fernando C. Gómez Merino³,
Tarsicio Corona-Torres⁴, Serafín Cruz-Izquierdo⁵, Rodrigo A. Mateos-Nava⁶

¹⁻⁵Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264. ³Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953. ⁶Unidad de Investigación en Genética y Toxicología Ambiental (UNIGEN), Laboratorio 5, primer piso, Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental (UMIEZ-Z), Facultad de Estudios Superiores-Zaragoza, Campus II, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México. C. P. 15000.

*E-mail: tlibia@colpos.mx

RESUMEN

Los metales no esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. En cantidades excesivas pueden ser dañinos y causar alteraciones fisiológicas en las plantas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto que producen tres metales no esenciales en parámetros de crecimiento de plántulas de chile Jalapeño expuestas a cadmio (Cd), talio (Tl) y vanadio (V). Se obtuvieron plántulas sanas de 60 días que fueron establecidas en un sistema en hidroponía en recipientes de plástico con solución nutritiva Steiner al 25%, después de una semana de aclimatación, se añadieron las soluciones de Cd (0, 5 y 15 μM), Tl (0, 0.5 y 1.5 μM) y V (0, 1 y 3 μM). Después de treinta días de exposición, las plantas fueron seccionadas en hojas, tallos y raíces, pesando cada órgano en una balanza analítica, con las hojas se determinó el área foliar por cada plántula empleando un integrador de área foliar. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza con un diseño completamente al azar con tres repeticiones, las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), con el software SAS. El área foliar se redujo 43% al aplicar 15 μM Cd, mientras que los tratamientos con 0.5 y 1.5 μM Tl disminuyeron 43 y 32%, respectivamente. La biomasa seca de hoja también se redujo 47 y 34% al aplicar 0.5 y 1.5 μM Tl, pero se incrementó 26% al exponer las plantas a 3 μM V. La biomasa seca de hoja se redujo 37% al exponer las plantas a 15 μM Cd, en tanto el Tl disminuyó 63 y 29% al aplicar 0.5 y 1.5 μM Tl. La biomasa seca de raíz se redujo 37 y 35 % al aplicar 0.5 y 1.5 μM Tl, y se incrementó 30% al aplicar 3 μM V. Los resultados obtenidos se han presentado en investigaciones con plantas de chile y tomate expuestas a Cd. Las alteraciones causadas por los tratamientos con Cd y Tl muestran sus efectos negativos para las plantas, mientras que las concentraciones utilizadas de V nos sugieren algunos efectos positivos en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se concluye que las concentraciones de los metales estudiados para las plántulas de chile Jalapeño presentaron el siguiente gradiente de toxicidad $\text{Tl} > \text{Cd} > \text{V}$.

INTRODUCCIÓN

La presencia de metales no esenciales en los suelos de cultivo es un problema que se ha ido incrementando a lo largo de las décadas, las principales emisiones ocurren de manera natural y por actividades humanas, principalmente por descargas industriales, minería y actividades agrícolas (Rai *et al.*, 2019; Zwolak *et al.*, 2019; Sarker *et al.*, 2023).

Metales como cobre (Cu), plata (Ag), zinc (Zn), cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), cromo (Cr), molibdeno (Mo), manganeso (Mn), cobalto (Co), níquel (Ni), vanadio (V) y talio (Tl) son considerados contaminantes inorgánicos cuando altas concentraciones de estos elementos están presentes en los ecosistemas. Muchos de ellos pueden causar enfermedades como cáncer de pulmón y dañar

órganos en riñón, vejiga, cerebro y en órganos reproductivos (Di Toppi y Gabrielli, 1999; Velarde *et al.*, 2023).

Estos elementos son parte de la solución del suelo, donde pueden estar disponibles para las plantas, ya muchos de ellos pueden utilizar las mismas rutas de absorción que recorren elementos esenciales (Rai *et al.*, 2019). Dentro de la raíz pueden continuar por las vías del apoplasto o simplasto (a través de los plasmodesmos); posteriormente ser cargados en el xilema, desde donde son transportados a parte aérea, donde pueden llegar a orgánulos celulares como el cloroplasto y la mitocondria (Di Toppi y Gabrielli, 1999).

Aunque las plantas han desarrollado estrategias ante el estrés de metales no esenciales, muchas especies son afectadas ante la presencia de altas concentraciones de estos elementos, principalmente a nivel fisiológico y morfológico; lo anterior ocasiona que diversas especies cultivadas en suelos contaminados por metales vean reducidos sus rendimientos o producción ante esta problemática (Singh *et al.*, 2016).

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos que provocan los metales no esenciales: Cd (0, 5 y 15 μM), Tl (0, 0.5 y 1.5 μM) y V (0, 1 y 3 μM), en cuatro variables de crecimiento (área foliar, biomasa seca de hoja, biomasa seca de tallo y biomasa seca de raíz) en plantas de chile Jalapeño cultivadas en un sistema hidropónico.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal y establecimiento de experimento

Se obtuvieron plántulas sanas de chile Jalapeño y Serrano de 60 d de crecimiento, las cuales fueron establecidas en un sistema en hidroponía en recipientes de plástico de 4 L de capacidad con solución nutritiva Steiner al 20% (Steiner, 1984) aplicando oxígeno cada 3 h por 15 min con una bomba de aire y ajustando el pH a 5.5. Esta investigación se desarrolló bajo condiciones de invernadero, en Montecillo, Estado de México.

Tratamientos

Después de una semana en aclimatación en el sistema hidropónico, se renovaron en su totalidad las soluciones nutritivas y se añadieron las soluciones conteniendo los metales Cd, Tl y V en las siguientes concentraciones:

- Cd: 0, 5 y 15 μM
- Tl: 0, 0.5 y 1.5 μM
- V: 0, 1 y 3 μM

En esta fase, las soluciones nutritivas fueron renovadas cada semana.

Diseño experimental

Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones, la unidad experimental fue un recipiente con cuatro plantas. Se empleó un diseño experimental completamente al azar y se realizaron experimentos independientes para cada metal evaluado.

Variables evaluadas

Después de cuatro semanas de exposición a las diferentes dosis de los tres metales, las plantas fueron separadas, seccionadas y llevadas al laboratorio para medir el área foliar empleando un integrador de área foliar (LI-300, LI-COR; Lincoln, NE, EEUU). Posteriormente las hojas, tallos y raíces fueron pesadas para obtener los pesos de biomasa fresca; enseguida, fueron introducidas en una estufa de aire forzado (Riossa, HCF-125D; Guadalajara, Jalisco, México) durante 48 h a 72 °C.

Después del secado, se determinaron los pesos de biomasa seca para cada órgano. Los pesos se tomaron usando una balanza analítica (Adventur Pro AV213C, Ohaus; Parsippany, NJ, EEUU).

Análisis de datos

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y pruebas de comparación de medias con la prueba LSD ($P \leq 0.05$), para cada metal y variedad evaluados, usando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La dosis 15 μM Cd redujo 43% el área foliar y 37% la biomasa seca de tallo en comparación con el tratamiento testigo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Variables de crecimiento en plántulas de chile Jalapeño tratadas con 0, 5 y 15 μM Cd durante 30 d.

Variables de crecimiento	Testigo	Cadmio (μM)	
	0	5	15
Área foliar (cm^2)	235.4 \pm 10.6 a	249.5 \pm 4.0 a	101.4 \pm 21.3 b
Biomasa seca de hoja (g)	0.53 \pm 0.10 a	0.76 \pm 0.22 a	0.43 \pm 0.05 a
Biomasa seca de tallo (g)	0.36 \pm 0.02 a	0.29 \pm 0.06 a	0.13 \pm 0.02 b
Biomasa seca de raíz (g)	0.43 \pm 0.03 ab	0.51 \pm 0.11 a	0.23 \pm 0.04 b

Medias \pm DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Las concentraciones 0.5 y 1.5 μM TI redujeron significativamente todas las variables de crecimiento evaluadas; en particular el área foliar en 43 y 32%; la biomasa seca de hoja en 47 y 34%; la biomasa seca de tallo en 63 y 29%; y la biomasa seca de raíz en 37 y 35% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Variables de crecimiento en plántulas de chile Jalapeño tratadas con 0, 0.5 y 1.5 μM TI durante 30 d.

Variables de crecimiento	Testigo	Talio (μM)	
	0	0.5	1.5
Área foliar (cm^2)	235.4 \pm 10.6 a	101.23 \pm 7.1 b	75.63 \pm 3.2 b
Biomasa seca de hoja (g)	0.53 \pm 0.10 a	0.25 \pm 0.03 b	0.18 \pm 0.02 b
Biomasa seca de tallo (g)	0.36 \pm 0.02 a	0.22 \pm 0.02 b	0.10 \pm 0.03 c
Biomasa seca de raíz (g)	0.43 \pm 0.03 ab	0.16 \pm 0.04 b	0.16 \pm 0.01 b

Medias \pm DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Contrario al Cd y el TI, el V tuvo un efecto positivo en el crecimiento; si bien incrementó todas las variables evaluadas con ambas dosis (1 y 3 μM), solo fueron significativamente diferentes al testigo con 3 μM V para biomasa seca de hoja y biomasa seca de raíz con incrementos del 94 y 30%, respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Variables de crecimiento en plántulas de chile Jalapeño tratadas con 0, 1 y 3 μM V durante 30 d.

Variables de crecimiento	Testigo	Vanadio (μM)	
	0	1	3
Área foliar (cm^2)	235.4 \pm 10.6 a	242.97 \pm 24.9 a	296.94 \pm 18.2 a
Biomasa seca de hoja (g)	0.53 \pm 0.10 b	0.81 \pm 0.06 ab	1.03 \pm 0.06 a
Biomasa seca de tallo (g)	0.36 \pm 0.02 a	0.43 \pm 0.07 a	0.63 \pm 0.11 a
Biomasa seca de raíz (g)	0.43 \pm 0.03 b	0.43 \pm 0.03 b	0.56 \pm 0.04 a

Medias \pm DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Las reducciones del área foliar encontradas en este estudio a aplicar Cd y TI se han reportado en plantas de tomate expuestas a 10 y 20 μM Cd (Casasola-Elizondo *et al.*, 2017), y en plántulas de chile tratadas con 15 y 30 μM Cd por 15 d (Hernández-Bautista *et al.*, 2015).

Así mismo, la reducción en la producción de biomasa seca de hoja se ha presentado en plantas de tomate expuestas de 20 a 100 μM CdCl_2 por 90 d (Hediji *et al.*, 2010), y en plantas de tomate expuestas por 30 d a 10 y 20 μM Cd (Casasola-Elizondo *et al.*, 2017). Contrariamente, tratamientos con 10 μM La incrementan la biomasa seca en plantas de pimiento morrón expuestas por 30 d (García-Jiménez *et al.*, 2017).

Los decrementos en la biomasa seca de tallo ocasionados por el Cd y el TI se han presentado en trabajos realizados en plantas de tomate expuestas de 20 a 100 μM CdCl_2 por 90 d (Hediji *et al.*, 2010) y en plantas de tomate expuestas a 20 μM Cd (Casasola-Elizondo *et al.*, 2017).

Las disminuciones significativas en la biomasa seca de raíz se han documentado con otros metales no esenciales en plantas de garbanzo expuestas a 400 μg Co L^{-1} (Khan y Khan, 2010), en plantas de tomate expuestas a 100 μM de CdCl_2 por 90 d (Hediji *et al.*, 2010), en tomate con dosis de 10 y 20 μM Cd (Casasola-Elizondo *et al.*, 2017), y en árboles de mangle tratados de 44.5 a 178 μM Cd (Rehman *et al.*, 2019). Los aumentos observados con V se han reportado en plantas de menta tratadas de 10 a 40 mg V L^{-1} (Akoumianaki-Ioannidou *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

La reducción de las variables de crecimiento en hoja, tallo y raíz muestran los efectos negativos del Cd y TI para las plantas de chile Jalapeño. Los resultados en V sugieren efectos horméticos bioestimulantes en esta especie. La toxicidad de las dosis usadas en cada uno de los metales mostró el siguiente gradiente: TI > Cd > V.

BIBLIOGRAFÍA

A. García-Jiménez, L. I. Trejo-Téllez, D. Guillén-Sánchez & F. C. Gómez-Merino, "Vanadium stimulates pepper plant growth and flowering, increases concentrations of amino acids, sugars and chlorophylls, and modifies nutrient concentrations", *PLoS One*, Vol. 13, 8, 2018,

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201908>

A. Akoumianaki-Ioannidou, P. E. Barouchas, A. Kyramariou, E. Llia & N. K. Moustakas, "Effect of vanadium on dry matter and nutrient concentration in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.)", *Bulletin UASVM Horticulture*, Vol. 72, 2, 2015, pp. 295-298, <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-hort:11348>

A. Sarker, A. Al. Masud, D. M. Deepo, K. Das, R. Nandi, M. W. R. Ansary, A. R. M. T. Islam & T. Islam, "Biological and green remediation of heavy metal contaminated water and soils: A state-of-the-art review", *Chemosphere*, Vol. 332, 138861, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138861>

A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture", Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633-650

A. Zwolak, M. Sarzyńska, E. Szpyrka & K. Stawarczyk, "Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: A review", *Water, Air, & Soil Pollution*, Vol. 230, 164, 2019, <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4221-y>

C. A. Casasola-Elizondo, L. I. Trejo-Téllez, G. Alcántar-González, F. C. Gómez-Merino & S. García-Morales, "Cadmio y fosfito en crecimiento de plántulas de tomate", *In: Pérez, F., Figueroa, E., Godínez, L., & Rocha, J. (Eds), Ciencias de la Química y Agronomía. Handbook T-I.* ©ECORFAN, Texcoco de Mora, México, 2017, pp. 28-37.

H. Hédiji, W. Djebali, C. Cabasson, M. Maucourt, P. Baldet, A. Bertrand, L. B. Zoghlami, C. Deborde, A. Moing, R. Brouquisse, W. Chaïbi & P. Gallusci, "Effects of long-term cadmium exposure on growth and metabolomic profile of tomato plants", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 73, 8, 2010, pp. 1965-1974, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.014>

L. Hernández-Bautista, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, S. García-Morales & O. Tejeda-Sartorius, "Physiological and nutrient changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings caused by cadmium", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 31, 4, 2015, pp. 389-396.

L. S. Di Toppi & R. Gabbrielli, "Response to cadmium in higher plants", *Environmental and Experimental Botany*, Vol. 41, 2, 1999, pp. 105-130, [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(98\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(98)00058-6)

L. Velarde, M. S. Nabavi, E. Escalera, M. L. Antti & F. Akhtar, "Adsorption of heavy metals on natural zeolites: A review", *Chemosphere*, Vol. 328, 138508, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138508>

M. R. Khan & M. M. Khan, "Effect of varying concentration of nickel and cobalt on the plant growth and yield of chickpea", *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, Vol. 4, 6, 2010, pp. 1036-1046.

P. K. Rai, S. S. Lee, M. Zhang, Y. F. Tsang & K. H. Kim, "Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management", *Environment International*, Vol. 125, 2019, pp. 365-385, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.067>

S. Singh, P. Parihar, R. Singh, V. P. Singh & S. M. Prasad, "Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 6, 1143, 2016, <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>

S. Rehman, G. Abbas, M. Shahid, M. Saqib, A. B. U. Farooq, M. Hussain, B. Murtaza, M. Amjad, M. A. Naeem & A. Farooq, "Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in *conocarpus* exposed to cadmium stress: Implications for phytoremediation", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 171, 2019, pp. 146-153, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.077>

SAS Institute Inc, "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.

TRATAMIENTO TÉRMICO AFECTA LA COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LA SEMILLA DE CACHICHÍN

Alejandro Esli Hernández-Mora¹, José Andrés Herrera-Corredor²;
Juan Valente Hidalgo-Contreras³, Aleida Selene Hernández-Cázares⁴, Adriana Contreras-Oliva⁵,
Libia I. Trejo-Téllez⁶, Fernando C. Gómez-Merino^{7*}

^{1-5,7} Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953. ^{6,7} Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: fernandg@colpos.mx

RESUMEN

El árbol cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thoms.) sembrado en la sierra de Misantla, Veracruz, México; produce un fruto de color verde con testa marrón rígida al madurar. Dentro contiene una semilla ovoide, carnosa, de cutícula papirácea y textura lisa. La semilla es comercializada por productores locales, y es consumida cruda o tostada como una botana tradicional saludable. El objetivo del presente estudio fue evaluar la composición proximal de la semilla de cachichín en estado crudo y bajo un tratamiento térmico (tostado) en condiciones controladas de laboratorio (134 °C por 25 min). Los resultados mostraron que, para cenizas, materia orgánica, fibra detergente ácido (FDA) y extracto etéreo, el tratamiento no mostró diferencia estadística. Sin embargo, en tostado controlado se observó un decremento en el contenido de humedad de 49% con respecto a crudo; el tostado controlado aumentó el contenido de materia seca y fibra detergente neutro (FDN) del 0.85% y 111%, respectivamente, en comparación con el testigo crudo. El contenido de humedad en semillas con un tostado controlado, mejora significativamente la calidad ante un almacenamiento prolongado, evitando degradación por microorganismos. La materia seca tiende a un aumento en presencia de tratamientos de secado o tostado, fenómeno que es causado por adición directa de calor, misma que provoca una disipación de la humedad contenida en la semilla. A pesar de presentar un aumento estadísticamente significativo en FDN, el valor es bajo con respecto al reportado por otras semillas, siendo deficiente como complemento para dieta en ganados. En conclusión, la aplicación de un tostado a condiciones controladas, mejora y mantiene la composición proximal de la semilla de cachichín.

INTRODUCCIÓN

El cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thoms.) es una especie arbórea que crece de manera natural en la sierra de Misantla, Veracruz, México, y se distribuye desde el sureste de México hasta Guatemala (Hernández-Urban *et al.*, 2019).

En el estado de Veracruz, algunos municipios que integran la Sierra de Misantla cultivan este árbol, cuya semilla cruda, hervida o tostada se consume y se comercializa como una botana saludable (Lascurain *et al.*, 2012).

Aunque ya se han realizado algunos estudios sobre la composición bioquímica de esta semilla, no se dispone de análisis detallados que evalúen el efecto de tratamientos térmicos en su composición proximal.

La semilla de cachichín es considerada una botana saludable a la que se atribuyen propiedades hipoglucémicas que podrían contribuir al control de la diabetes (Lascurain *et al.*, 2016).

Se han detectado diversas clases de componentes en las semillas crudas de cachichín, como saponinas, esteroides, cumarinas y ácidos grasos insaturados, incluyendo ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linolénico (Hernández *et al.*, 2013), los cuales pueden tener un efecto beneficioso en el control de enfermedades cardiovasculares (Campos-Mondragón *et al.*, 2013).

Sin embargo, no se cuenta con estudios detallados sobre la composición química de la semilla ni del efecto que tratamientos térmicos sobre tal composición.

El objetivo del presente estudio fue realizar una caracterización proximal de la semilla de cachichín en crudo y sometida a un tratamiento térmico controlado en condiciones de laboratorio.

PARTE EXPERIMENTAL

Semillas de cachichín

En esta investigación se emplearon semillas de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thoms.), que fueron obtenidas con comerciantes del municipio de Misantla, Veracruz, México, ubicado entre los paralelos 19° 46' y 20° 09' de latitud norte; los meridianos 96° 45' y 97° 00' de longitud oeste; altitud entre 10 y 1 900 m (INEGI, 2010).

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron dos tratamientos en semillas de cachichín: 1) Semillas crudas. 2) Semillas con tratamiento térmico bajo condiciones controladas de laboratorio (134 °C por 25 min). El tratamiento térmico de tostado controlado se realizó en una cacerola de aluminio casera y una parrilla de calentamiento (SP131015Q, Thermo-Scientific, Estados Unidos) a 134 °C por 25 min (Hernández-Mora *et al.*, 2017).

Cada tratamiento tuvo seis repeticiones, mismas que se manejaron en laboratorio de acuerdo con una distribución completamente al azar.

Variables evaluadas

En las semillas de cachichín cruda y tostadas se determinó humedad relativa, cálculo de materia seca, extracto etéreo, cenizas y cálculo de materia orgánica con la metodología AOAC (2005). Para fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) se utilizó la metodología modificada de Goering y Van-Soest (1970).

Análisis de datos

Los datos fueron procesados mediante el software estadístico RStudio versión 1.2.5033, para lo cual se realizó un análisis de varianza (ANOVA), con el fin de determinar diferencias significativas con un nivel de confianza del 95 % ($P \leq 0.05$) mediante la prueba Tukey. Los resultados evaluados se presentaron como el promedio de seis mediciones.

RESULTADOS

Los porcentajes de cenizas, materia orgánica, fibra detergente ácido (FDA) y extracto etéreo no fueron diferentes entre tratamientos (Cuadro 1). Sin embargo, en tostado controlado se tuvo decremento en humedad de 49% con respecto a crudo.

El tostado controlado aumentó la materia seca y la fibra detergente neutro (FDN) en 0.85 y 111%, respectivamente, en comparación con el testigo crudo. La humedad en semillas con un tostado controlado, mejora significativamente la calidad ante un almacenamiento prolongado, evitando

degradación por microorganismos. La materia seca tiende a incrementarse en presencia de tratamientos de secado o tostado, fenómeno que es causado por adición directa de calor, misma que provoca una disipación de la humedad contenida en la semilla. A pesar de presentar un aumento estadísticamente significativo en FDN, el valor es bajo con respecto al reportado por otras semillas, siendo deficiente como complemento para dieta en ganados (Dorantes-Jiménez *et al.*, 2016).

El alto porcentaje de materia orgánica observado en la semilla de cachichín, demuestra un posible valor nutricional que aportaría biomoléculas (proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos) importantes durante el consumo de la semilla en la dieta diaria. El extracto etéreo expresado en porcentaje (Cuadro 1) en tostado controlado, mantiene valores promedios cercanos a los reportados anteriormente en la semilla en estado crudo (Hernández *et al.*, 2013), conservando el rendimiento de ácidos grasos pesar del tratamiento térmico.

Cuadro 1. Análisis proximal en semilla de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.) en estado crudo y tostado controlado.

Tratamientos	Cenizas	Materia orgánica	FDA	Extracto etéreo
	%			
Semilla cruda	2.42 ± 0.04a	97.58 ± 0.04a	0.02 ± 0.00a	40.22 ± 0.46a
Semilla con tostado controlado	2.59 ± 0.22a	97.41 ± 0.22a	0.03 ± 0.01a	39.20 ± 0.40a

Tratamientos	Humedad	Materia seca	FDN
	%		
Semilla cruda	1.73 ± 0.08 a	98.27 ± 0.08 b	0.09 ± 0.00 b
Semilla con tostado controlado	0.88 ± 0.06 b	99.12 ± 0.06 a	0.19 ± 0.01 a

Medias ± EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $P \leq 0.05$). Los valores son reportados en base seca (b. s.). FDN: Fibra detergente neutro. FDA: Fibra detergente ácido.

Este estudio confirma la importancia nutraceutica de la semilla de cachichín para su uso con propósitos alimenticios y medicinales (Hernández-Mora *et al.*, 2021). Especialmente, este estudio es estratégico al permitir caracterizar los recursos fitogenéticos subutilizados que existen en nuestro país, y potenciar su aprovechamiento sustentable.

CONCLUSIONES

La aplicación de un tostado a condiciones controladas, mejora y mantiene la composición proximal de la semilla de cachichín. El alto contenido de materia orgánica y un extracto etéreo similar al estado crudo, sugiere un posible valor nutricional en la dieta diaria. En general, estos hallazgos proporcionan información útil sobre las propiedades de la semilla de cachichín y su potencial uso en la alimentación humana y animal.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. E. Hernández-Mora, L. I. Trejo-Téllez, A. S. Hernández-Cázares, A. Contreras-Oliva, & F. C. Gómez-Merino, "Cachichín seed (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H.Thomps.): Source of nutrients and bioactive compounds", *Revista Chapingo Serie Agricultura Tropical*, Vol. 1, 2, 2021, pp. 57-69, <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsat.2021.02.05>
2. A. E. Hernández-Mora, M. Castillo-Morales, E. A. García-Montalvo & E. Flores-Andrade, "Prueba de toxicidad aguda-oral del aceite de la semilla *Oecopetalum mexicanum* en ratones BALB/c", *Journal CIM*, Vol. 5, 2, 2017, pp. 1043-1050.
3. AOAC. "Official Methods of Analysis of the Association of Official", Published by the Association of Official Agriculture Chemist, 18th edition, 2005. Washington, DC, USA.
4. B. Hernández, G. Luna, O. García, M. R. Mendoza, E. Azuara, C. I. Beristain & M. Jiménez, "Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil", *Industrial Crops and Products*, Vol. 43, 2013, pp. 355-359. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.022>
5. H. A. Hernández-Urban, D. F. Angulo, M. Lascurain-Rangel, S. Avendaño-Reyes, L. L. Can, G. W. Stull & R. Duno de Stefano, "Systematics and phylogeny of *Oecopetalum* (Metteniusaceae), a genus of trees endemic to North and Central America", *Revista de Biología Tropical*, Vol. 67, 4, 2019, pp. 888-900 <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i4.33367>
6. H. K. Goering & P. J. Van-Soest, "Forage fiber analyses (Apparatus, Reagents, Procedures and some Applications)", *Agriculture Handbook - Agricultural Research Service*, No. 379, 1970. USDA. Washington, DC, USA.
7. INEGI, "Compendio de información geográfica municipal 2010 Misantla Veracruz de Ignacio de la Llave", 2010, https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/30/30109.pdf
8. J. Dorantes-Jiménez, C. Flota-Bañuelos, B. Candelaria-Martínez, M. Ramírez-Mella & M. M. Crosby-Galván, "Calabaza chihua (*Cucurbita argyrosperma* Huber), alternativa para alimentación animal en el trópico", *Agroproductividad*, Vol. 9, 9, 2016, pp. 33-37.
9. M. G. Campos-Mondragón, R. M. Oliart-Ros, A. Martínez-Martínez, G. F. Méndez-Machado & J. O. Angulo-Guerrero, "Metabolic syndrome reversion by polyunsaturated fatty acids ingestion", *Medicina Clínica*, Vol. 141, 12, 2013, pp. 513-518. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2012.10.030>
10. M. Lascurain, S. Avendaño, C. López, J. C. López & M. Covarrubias, "Ecological, productive and cultural values of cachichin (*Oecopetalum mexicanum*): an edible wild fruit from Veracruz, Mexico", *BGjournal*, Vol. 9, 2, 2012, pp. 13-16. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(96\)01124-3](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(96)01124-3)
11. M. Lascurain, C. López-Binnqüist & M. R. Emery, "Culture and environment in the Sierra de Misantla, Veracruz, Mexico: the case of *Oecopetalum mexicanum*", *Maderas y Bosques*, Vol. 22, 3, 2016, pp. 11-21 <https://doi.org/10.21829/myb.2016.223489>

ÁREA FOLIAR Y ÁREA FOLIAR ESPECÍFICA DE COL BAJO ESTRÉS SALINO Y DIFERENTES DOSIS DE AZUFRE

Fresia Pachecho-Sangerman¹, Ma. Guadalupe Peralta-Sánchez², Fernando C. Gómez-Merino³, Gabriel Alcántar-González⁴, Olga Tejeda-Sartorius⁵, Libia I. Trejo-Téllez^{6*}

¹⁻⁶Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. ³Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba.

*E mail: tlibia@colpos.mx

RESUMEN

La salinidad es uno de los factores de estrés ambiental más perjudiciales en la producción de cultivos, ya que de manera simultánea causa toxicidad iónica, estrés osmótico y estrés oxidativo. El género *Brassica*, que incluye varias especies de importancia económica, es afectado en su rendimiento por el estrés salino al interrumpir la fotosíntesis, el intercambio gaseoso y el crecimiento vegetativo y reproductivo. El azufre (S) actúa como factor clave para combatir el estrés abiótico en plantas, debido a que varios compuestos son sintetizados a partir del metabolismo de este elemento. En este estudio se evaluó la adición de diferentes niveles de NaCl (0, 75 y 150 mM) y de SO₄²⁻ (3.5, 4.25 y 5 mM) para contrarrestar los daños producidos por el primero y en el área foliar y área foliar específica de plantas de col. Por lo anterior, se establecieron plantas de col (*Brassica oleracea* cv. Royal) en un sistema de raíz flotante con solución nutritiva universal de Steiner, provisto de un mecanismo de oxigenación en un diseño factorial de 3 × 3. Después de 40 días de la adición de tratamientos con NaCl y SO₄²⁻ se midió el área foliar (integrador de área foliar LI-300, LI-COR; Lincoln, NE, EEUU). Posteriormente, las muestras se secaron en una estufa de aire forzado (Riossa, HCF-125D, México) y se determinó biomasa seca de las plantas en una balanza analítica (Adventurer Pro AV213C, Ohaus; Parsippany, NJ, EEUU). La relación entre área foliar y biomasa seca representa el área foliar específica. Con los resultados de área foliar y área foliar específica se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$). La interacción de los factores de estudio no tuvo efecto significativo en las variables evaluadas; y tampoco el factor SO₄²⁻. Las dosis de NaCl se relacionaron de manera inversa con el área foliar, observándose reducciones de área foliar, con un decremento significativo de 18 y 57.3% en plantas tratadas con 75 y 100 mM NaCl, respectivamente. Se concluye que bajo las condiciones experimentales de este estudio los niveles de SO₄²⁻ evaluados en las soluciones nutritivas no mitigaron los efectos negativos del estrés salino en col.

INTRODUCCIÓN

Las concentraciones altas de sales en suelos y soluciones de riego producen desequilibrios iónicos y estrés osmótico en las plantas (Kumar *et al.*, 2021), lo que ocasiona cambios fisiológicos y metabólicos, como desequilibrio nutricional, inhibición de la absorción de agua, reducción de la capacidad de germinación de semillas, disminución de la actividad fotosintética, inducción de estrés oxidativo, reducción de la producción de biomasa y del rendimiento y calidad de alimentos (Ondrasek *et al.*, 2022). Las respuestas a estos cambios suelen ir acompañados de una gran variedad de síntomas que son fácilmente visibles, como la disminución del área foliar, el aumento en el grosor de la hoja y succulencia, abscisión de hojas, necrosis de raíz, así como la reducción de la longitud de entrenudos (Rahneshan *et al.*, 2018).

Por otro lado, el S es un elemento esencial para las plantas que desempeña diversas funciones, entre ellas las relacionadas con defensa contra factores de estrés biótico y abiótico. Específicamente en la familia Brassicaceae es precursor de los glucosinolatos, metabolitos secundarios que al

hidrolizarse a través de la actividad de enzimas miosinasas, dan lugar a sustancias que incrementan la tolerancia a diversos tipos de estrés (Trejo-Téllez *et al.*, 2019).

El género *Brassica* incluye especies de importancia económica en todo el mundo, que en su mayoría se consumen como vegetales frescos. El rendimiento de estas especies es afectado por el estrés salino ya que este factor reduce su crecimiento y desarrollo al disminuir la fotosíntesis y el intercambio de gases de las hojas, y aumenta la acumulación de iones como Na^+ y Cl^- hasta niveles tóxicos, y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Shahzad *et al.*, 2022). Para mitigar los efectos del estrés salino, es posible usar iones de sulfato en solución (Banerjee, 2021). Por otro lado, estas especies tienen cierta capacidad para tolerar el estrés salino mediante acumulación de osmolitos orgánicos e inorgánicos, exclusión eficiente de Na^+ y una mejor capacidad de retención de K^+ (Shahzad *et al.*, 2022).

Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres dosis de sulfato en el área foliar y área foliar específica de plantas de col (*Brassica oleracea*) cv. Royal, sometidas a tres niveles diferentes de NaCl en la solución nutritiva.

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación del experimento y condiciones experimentales

La investigación se realizó bajo condiciones de invernadero, en el campus Montecillo, del Colegio de Posgraduados, ubicado en Montecillo, Estado de México.

Material vegetal

Se emplearon plántulas de col (*Brassica oleraceae*) cv. Royal, de 30 días de edad obtenidas de siembra directa de la semilla en almácigo empleando como sustrato una mezcla de perlita y turba en una proporción 1:1 (v:v).

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Se condujo un experimento factorial 3^2 compuesto por tres niveles de SO_4^{2-} (3.5, 4.25 y 5 mM) y tres niveles de NaCl (0, 75 y 150 mM). La combinación de los niveles de los dos factores de estudio dio lugar a nueve tratamientos. Los tratamientos fueron suministrados en la solución universal de Steiner, misma que se modificó para la aplicación de las tres concentraciones de SO_4^{2-} sin alterar el potencial osmótico de la solución, mismo que fue de -0.076 MPa.

Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y se dispusieron en un diseño experimental completamente al azar. Las unidades experimentales estuvieron compuestas por macetas de 12 L acondicionadas para sostener tres plantas cada una, empleando un sistema de raíz flotante.

Manejo del experimento

Se aplicaron los tratamientos a las plantas de col durante 40 días. El pH de la solución de las macetas se monitoreó todos los días y se ajustó a un valor de 5 usando H_2SO_4 1 N. Las macetas contaron con un sistema de oxigenación para las raíces. Las soluciones nutritivas fueron renovadas en su totalidad cada 10 días.

VARIABLES EVALUADAS

Después del periodo de aplicación de tratamientos, las plantas se retiraron de la solución nutritiva y se procedió a separar el vástago de la raíz. En seguida, se determinó el área foliar por planta con un integrador de área foliar (LI-COR-3000A; Lincoln, NE, EE. UU.). Posteriormente, las hojas de cada

planta fueron colocadas en bolsas de papel y se secaron en una estufa de aire forzado (Riossa HCF-125, Monterrey, México) a 70 °C hasta peso constante. Una vez que las muestras estuvieron secas, se determinó el peso de biomasa de las mismas en una balanza analítica (Adventurer Ohaus Pro AV213C; Parsippany, NJ, EE. UU.). Finalmente, se estimó el área foliar específica dividiendo el área foliar entre el peso de la biomasa seca de hojas (Liu *et al.*, 2017).

Análisis de datos

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza para evaluar la significancia de los factores de estudio y de su interacción. Posteriormente, con los resultados que fueron diferentes entre tratamientos, se hicieron pruebas de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), empleando el software SAS 9.0.

RESULTADOS

El efecto principal del factor SO_4^{2-} y la interacción de éste con el factor NaCl no fueron significativos; por tanto, solamente el factor NaCl tuvo influencia en los resultados obtenidos en área foliar y área foliar específica en col (Cuadro 1).

Cuadro 1. Significancia de los factores de estudio (SO_4^{2-} y NaCl) y de su interacción en el área foliar y área foliar específica de plantas de col cv. Royal.

Factor de estudio	Área foliar	Área foliar específica
SO_4^{2-}	0.2365 ns	0.5660 ns
NaCl	<.0001 *	<.0001 *
$\text{SO}_4^{2-} \times \text{NaCl}$	0.6382 ns	0.9486 ns

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

Se ha reportado que el estrés salino ocasiona inhibición del crecimiento, lo cual se refleja en menor altura y crecimiento de raíces; asimismo, otro efecto negativo es el decremento de la tasa fotosintética, a través de la reducción en el área foliar y en el contenido de clorofila; lo que se debe a daño metabólico por el cierre de estomas (Dikobe *et al.*, 2021). En plantas de la especie *Calotropis procera* sometidas a tratamientos de sequía y salinidad, se observaron disminuciones en el área foliar total en 41 y 27%, respectivamente (Melo *et al.*, 2021). De la misma manera, en chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) se observó que otros factores de estrés abiótico como los son la sequía e inundaciones, afectan negativamente el área foliar (Martínez-Acosta *et al.*, 2020).

Los resultados de las investigaciones antes reportadas coinciden con los hallazgos de este estudio, donde el área foliar por planta se relacionó de manera negativa con la dosis de NaCl en la solución nutritiva; es decir a mayor estrés salino menor área foliar por planta. Se registraron decrementos de 18 y 57.3% en plantas tratadas con 75 y 100 mM NaCl, respectivamente, en comparación con el testigo; sin embargo, solo existieron diferencias estadísticas entre 100 mM NaCl y el testigo (Figura 1).

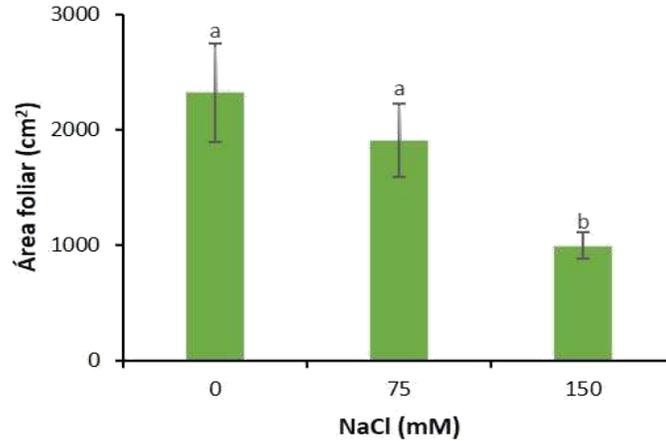


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl en el área foliar de plantas de col. Medias \pm DE con letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Por otra parte, el área foliar específica es un rasgo clave con gran importancia ecológica, ya que se correlaciona con el crecimiento de toda la planta (Liu *et al.*, 2017). Adicionalmente, las hojas presentan una gran plasticidad en respuesta a diferentes condiciones ambientales, donde se han documentado adaptaciones anatómicas específicas (Melo *et al.*, 2021). En este estudio no se observaron diferencias significativas en los valores de área foliar específica entre tratamientos, con valores que oscilaron entre 125.5 y 133.2 $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$ (Figura 2); sin embargo, se observan tendencias crecientes a medida que la dosis de NaCl aumentó en la solución nutritiva. En *C. procera*, se ha reportado el incremento en el área foliar específica y en la disminución en el tamaño de los estomas, lo que se tradujo en la mitigación del intercambio de gases bajo condiciones de salinidad y sequía (Melo *et al.*, 2021).

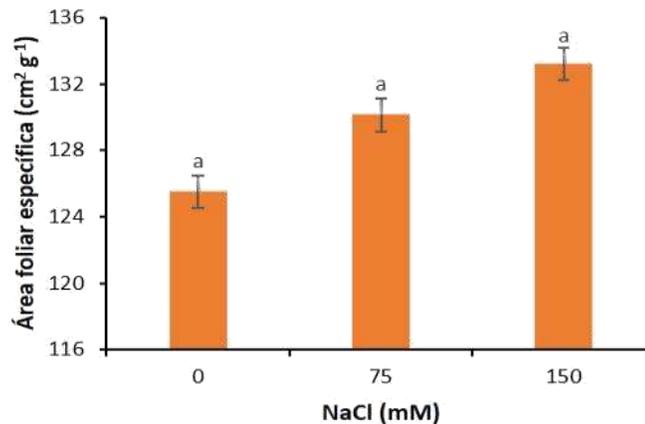


Figura 2. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl en el área foliar específica de plantas de col. Medias \pm DE con letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales de este estudio, el efecto principal del factor SO_4^{2-} no fue significativo; por tanto, no redujo los efectos negativos de la salinidad en el área foliar y en el área foliar específica. Asimismo, se concluye que a medida que la dosis de NaCl incrementa, los efectos inhibitorios en el crecimiento de la hoja son mayores.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. S. Melo, T. S. Yule, V. A. Barros, R. Rivas & M. G. Santos, "C₃-species *Calotropis procera* increase specific leaf area and decrease stomatal pore size, alleviating gas exchange under drought and salinity". *Acta Physiologiae Plantarum*, Vol. 43, 140, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03312-3>
2. B. Shahzad, A. Rehman, M. Tanveer, L. Wang, S. K. Park & A. Ali, "Salt stress in *Brassica*: Effects, tolerance mechanisms, and management". *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 41, 1, 2022, pp. 781-795. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10338-x>
3. E. Martínez-Acosta, L. C. Lagunes-Espinoza, M. Castelán-Estrada, F. Lara-Viveros & C. Trejo, "Leaf gas exchange and growth of *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* under conditions of flooding and water deficit". *Photosynthetica*, Vol. 58, 3, 2020, pp. 873-880. <https://doi.org/10.32615/ps.2020.032>
4. G. Ondrasek, S. Rathod, K. K. Manohara, C. Gireesh, M. S. Anantha, A. S. Sakhare, B. Parmar, B. K. Yadav, N. Bandumula, F. Raihan, A. Zielińska-Chmielewska, C. Meriño-Gergichevich, M. Reyes-Díaz, A. Khan, O. Panfilova, A. S. Fuentealba, S. M. Romero, B. Nabil, C. Wan, J. Shepherd & J. Horvatinec. "Salt stress in plants and mitigation approaches", *Plants*, Vol. 11, 6, 2022, pp. 1-21. <https://doi.org/10.3390/plants11060717>
5. L. I. Trejo-Téllez, E. Estrada-Ortiz, F. C. Gómez-Merino, C. Becker, A. Krumbein & D. Schwarz, "Flavonoid, nitrate and glucosinolate concentrations in *Brassica* species are differentially affected by photosynthetically active radiation, phosphate and phosphite". *Frontiers in Plant Science*, Vol. 10, 371, 2019, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00371>
6. M. Liu, Z. Wang, S. Li, X. Lü, X. Wang & X. Han, "Changes in specific leaf area of dominant plants in temperate grasslands along a 2500-km transect in northern China". *Scientific Reports*, Vol. 7, 10780, 2017, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11133-z>
7. S. Banerjee, "Aquaporins: A potential weapon in plants for abiotic stress tolerance", *In: Transporters and Plant Osmotic Stress* (Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, 2021), A. Roychoudhury, D. Tripathi, R. Deshmukh (Eds.), Chapter 5, pp. 77-87.
8. S. Kumar, G. Li, J. Yang, X. Huang, Q. Ji, W. Ke & H. Hou, "Effect of salt stress on growth, physiological parameters, and ionic concentration of water dropwort (*Oenanthe javanica*) cultivars". *Frontiers in Plant Science*, Vol. 12, 660409, 2021, pp. 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.660409>
9. T. B. Dikobe, B. Mashile, R. R. Sinthumule & O. Ruzvidzo, "Distinct morpho-physiological responses of maize to salinity stress". *American Journal of Plant Sciences*, Vol. 12, 6, 2021, pp. 946-959.
10. Z. Rahnesan, F. Nasibi & A. A. Moghadam, "Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks". *Journal of Plant Interactions*, Vol. 13, 1, 2018, pp. 73-82, <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1424355>

AGUA DE COCO MEJORA EL CRECIMIENTO DE DENDROBIUM SP. (ORCHIDACEAE) EN CONDICIONES *IN VITRO*

Yasbet Ríos-Barreto, Gregorio Arellano-Ostoa, Libia I. Trejo-Téllez, Olga Tejeda-Sartorius*

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, 56264.

*E-mail: olgats@colpos.mx

RESUMEN

Es común que en las técnicas de cultivo *in vitro* se usen complementos orgánicos para mejorar el crecimiento de raíces y desarrollo de tallos de orquídeas, como el agua de coco. El agua de coco (AC) ha mostrado tener efectos positivos en el crecimiento vegetativo de distintas orquídeas, como en *Vanilla*, *Phalaenopsis*, *Paphiopedilum*, *Dendrobium*. Existe poca información de la forma como se usa el AC y en combinación con reguladores del crecimiento vegetal (PGRs). Se investigó el efecto de diferentes procesos al agua de coco con diferentes dosis de benciladenina (BA), en el crecimiento *in vitro* de *Dendrobium* sp. Se usó el medio de cultivo C de Knudson + 30g de sacarosa, 7 g de agar, con ajuste de pH a 5.7. Los tratamientos se basaron en el uso de 15% de agua de coco esterilizada (ACEst, 121° C, por 20 minutos) y filtrada (ACFil, con filtros millipore de jeringa, de 0.22 µ), complementados con dos dosis de BA (2.5 y 5 mg L⁻¹), adicionados al medio de cultivo; y dos testigos: 1) sin AC ni BA (S/AC-BA; 2) con AC sin BA (C/AC-BA). Estos tratamientos se distribuyeron en un bioensayo con plántulas de *Dendrobium* sp. Se colocaron en cámaras de crecimiento con luz LED roja y azul, en proporción 90:10 con 120 µmol m⁻² s⁻¹, y se establecieron en un fotoperiodo de 16/8 luz/oscuridad, a una temperatura 24/18 °C. Se evaluó el peso fresco y el número de brotes. Los resultados mostraron el número de brotes fue superior en todos los tratamientos con agua de coco y BA, en comparación con el testigo. Mientras que el peso fresco en el tratamiento ACEst fue estadísticamente superior a S/AC-BA. Se concluye que el agua de coco mejora el crecimiento de *Dendrobium* sp., principalmente el número de brotes, indistintamente si se trata de agua esterilizada o filtrada, o de la adición de BA.

INTRODUCCIÓN

En el cultivo *in vitro* es común la adición de productos orgánicos, como el agua de coco, que pueden proporcionar vitaminas aminoácidos, carbohidratos, péptidos y fitohormonas (Utami y Hariyanto 2020). Entre las principales fitohormonas que se encuentran en el agua de coco están las cotocininas, giberelias y auxinas (Yong *et al.*, 2009). En el cultivo *in vitro* de orquídeas se ha reportado el uso de agua de coco, principalmente en la geminación de *Dendrobium tosaense* (Lo *et al.*, 2004), *Hadrolaelia purpurata* (Gonçalves *et al.*, 2012), *Dimorphorchis lowii* (Jainol y Jualang, 2015), y también en la multiplicación, como en *Cypripedium macranthos* (Zhang *et al.*, 2013), *Phalaenopsis amboinensis* (Utami y Hariyanto, 2019).

A pesar de su frecuente uso en el cultivo de tejidos vegetales, poca información es proporcionada en la literatura acerca del proceso al agua de coco antes de adicionarla al medio de cultivo, lo cual puede ser una de las causas por las que su uso es limitado e inseguro. Por ejemplo, algunos autores lo agregan al medio y lo esterilizan junto con este (Zhang *et al.*, 2013) Jainol y Jualang (2015). Otras veces, no se da este tipo de información (Lo *et al.*, 2004; Utami y Hariyanto 2019), lo cual complica la réplica de los experimentos.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de alta temperatura y filtración al agua de coco, así como diferentes dosis de benciladenina, en el crecimiento *in vitro* de *Dendrobium* sp.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal. Se usaron plántulas de *Dendrobium* sp, propagadas *in vitro*, de 2 cm de longitud, con 4 hojas y sin raíces.

Agua de coco. Se usaron cocos frescos inmaduros provenientes del mercado local, los cuales se lavaron con agua potable y jabón, se sumergieron en una solución al 10% de hipoclorito de sodio comercial más 2 gotas de tween 20, durante 30 minutos. En la campana de flujo laminar se extrajo el agua de cada coco y se mezclaron, se almacenaron en bolsas de plástico y se llevaron a ultracongelación (-80 °C), hasta su uso en los tratamientos, previo descongelamiento a 4° C, 24 horas antes de su uso.

Medio de cultivo. Para todos los tratamientos, se usó un medio basal compuesto por: Knudson C (KC), 30 g L⁻¹ de sacarosa, y 7 g de agar (Cuadro 1). Fue entonces cuando se adicionó agua de coco, según tratamientos indicados abajo. El pH se ajustó a 5.7, antes de su esterilización a 121 °C por 20 minutos en autoclave, a 1.5 atmosferas de presión. Se usaron frascos con capacidad de 60 ml y en cada uno se colocaron 20 mL de medio de cultivo.

Condiciones de crecimiento. Se incubaron en cámaras de crecimiento con luz LED roja y azul, en proporción 90:10 con 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y se establecieron en un fotoperiodo de 16/8 luz/oscuridad, a una temperatura 24/18 °C.

Tratamientos. Los tratamientos consistieron en dos diferentes procesos al agua de coco: i) esterilización en autoclave a 121 °C por 20 minutos junto con el medio de cultivo, adicionada al 15% (v/v); ii) agua de coco filtrada a través de filtros de jeringa millipore 2 μm . Asimismo, se usaron dos dosis de BA (2.5 y 5 mL). Estos tratamientos se agregaron al medio basal KC, quedando los tratamientos como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos empleados para el crecimiento de *Dendrobium* sp. en condiciones *in vitro*.

Clave del tratamiento	Descripción del tratamiento
S/AC-BA	Medio basal KC
ACEst	Medio basal KC + agua de coco esterilizada
ACEst + 2.5	Medio basal KC + agua de coco esterilizada + 2.5 mg L ⁻¹ de BA
ACEst + 5	Medio basal KC + agua de coco esterilizada + 5.0 mg L ⁻¹ de BA
ACFil	Medio basal KC + agua de coco filtrada
ACFil + 2.5	Medio basal KC + agua de coco filtrada + 2.5 mg L ⁻¹ de BA
ACFil + 5	Medio bas KC + agua de coco filtrada + 5 mg L ⁻¹ de BA

S/AC-BA: sin agua de coco y sin BA; BA: benciladenina.

Variables de estudio. Se contabilizó el número de brotes nuevos y el peso fresco, seis meses después de iniciados los tratamientos.

Se usó un diseño completamente al azar, con 6 repeticiones, los datos se analizaron mediante un ANOVA y prueba de comparación de medias con prueba de Tukey (0.05%). Los datos se analizaron mediante R software, versión 4.1.0 (R Core Team, 2021).

RESULTADOS

Todos los tratamientos con agua de coco, con excepción de ACFil, incrementaron significativamente el número de brotes, en relación con el testigo, siendo el tratamiento ACEst + 2.5 el que presentó estadísticamente mayor número de brotes (promedio de 11.2), en comparación con el resto de los tratamientos. Se observó, asimismo, un efecto positivo del BA 2.5 mg L⁻¹, tanto para ACEst (11.2 brotes) como para ACFil (9.3 brotes) en relación con ACEst (5.5 brotes) y ACFil (3.5 brotes), ambos sin BA, y en relación con ACEst+5 (5 brotes) y ACFil+5 (7.3 brotes). Es decir, se observó un efecto hormético con el uso de BA, ya que la concentración de 2.5 mL con agua de coco, esterilizada o filtrada, incrementa el número de brotes; mientras que la dosis de 5 mL de BA, lo disminuye (Figura 1). Resultados similares reportan Asghar *et al.* (2011), quienes indican que al incrementar BA a 3 mg L⁻¹ obtuvo menos brotes (1.9), en comparación con las dosis de 2 mg L⁻¹ de BA (4.3) y 2.5 (2.5), mientras que con distintas dosis de AC (50-300 mL) obtuvieron entre 2-3 brotes nuevos, en *Dendrobium nobile* var. Emma White. Sin embargo, con nuestros resultados obtuvimos mayor número de brotes para *Dendrobium* sp. (de 5 a 11 brotes), principalmente con ACEst (11). Asimismo, también es similar a lo reportado por Pyati *et al.* (2002) quienes indican que la adición de agua de coco (esterilizada con el medio) en distintas concentraciones (5, 10 y 15% v/v), promovieron significativamente mayor número de brotes por explante (3.6, 5.9 y 6.2 respectivamente), en *D. macrostachyum*, en comparación con la adición de distintas dosis de reguladores de crecimiento como BA (1.5, 3.6 2.9), kinetina (2.0,2.4,3.2), o ANA (1.0).

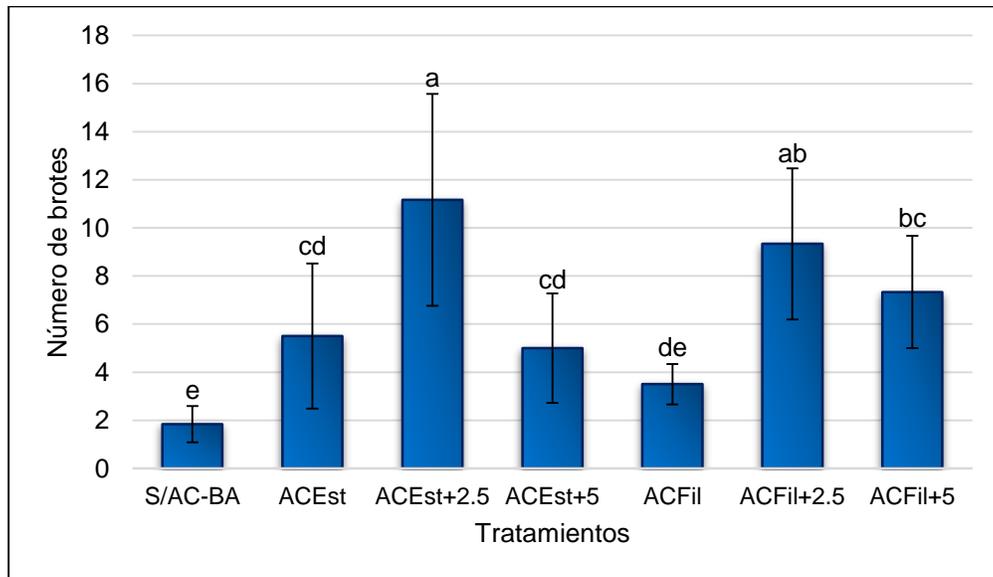


Figura 1. Número de brotes de *Dendrobium* sp. derivados de tratamientos con agua de coco (AC) esterilizada (ACEst) o filtrada (ACFil) con diferentes dosis de Benciladenina (BA, 2.5 y 5 mg L⁻¹). Barras ± DE con diferentes letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

El ACEst generó el mayor peso fresco (3.1 g) en relación con el resto de los tratamientos; mientras que el tratamiento con el menor peso fue ACEst+5 (0.79 g), pero este fue significativamente igual al testigo (S/AC-BA). A diferencia del número de brotes, el peso fresco disminuyó con la adición de BA con agua de coco esterilizada, mostrando un efecto inversamente proporcional a la dosis de BA (0, 2.5 y 5 mL). En cambio, con el agua de coco filtrada, hay un efecto similar al que se produjo en el número de brotes (mayor peso con ACFil+2.5) (Figura 2).

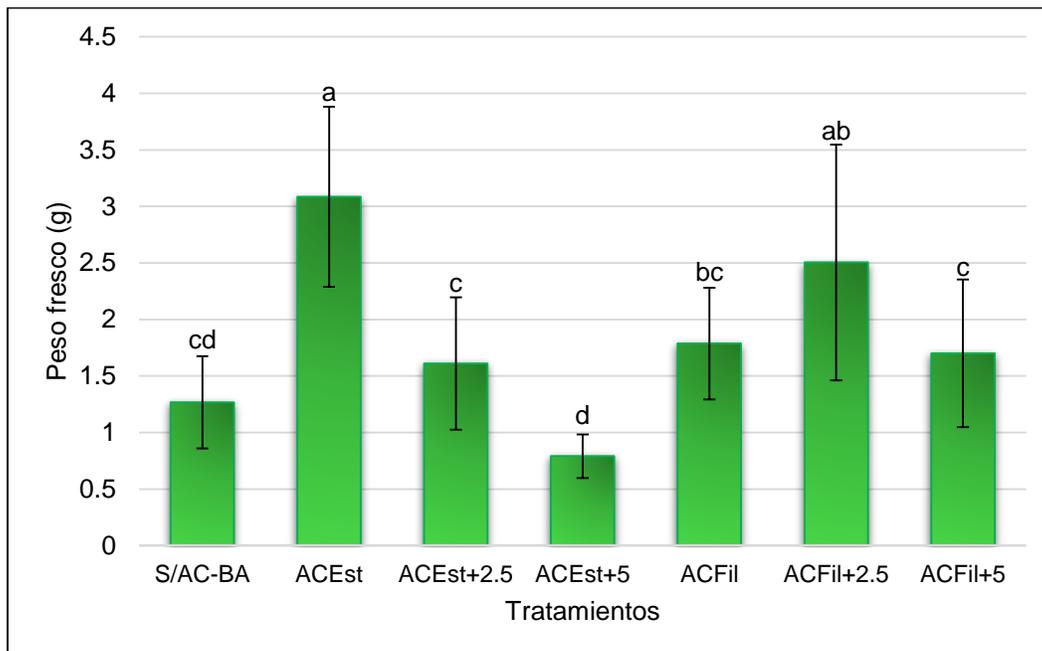


Figura 2. Peso fresco de plántulas de *Dendrobium* sp. derivado de tratamientos con agua de coco (AC) esterilizada (ACEst) o filtrada (ACFil) con diferentes dosis de benciladenina (BA, 2.5 y 5 mg L⁻¹). Barras ± DE con diferentes letras indican diferencias significativas (Tukey, 0.05).

Se obtuvo un peso fresco significativamente mayor con solo la adición de AC esterilizada, esto contrasta con lo reportado por Asghar *et al* (2011), ellos obtuvieron el mayor peso fresco en *D. nobile* var. Emma White con dosis de 2.0 BA, (0.75 g), mientras que con AC 150 mL L⁻¹ (esterilizada), el peso promedio de los explantes fue de 0.49 g, y conforme se incrementó la dosis de AC el peso fresco disminuyó, lo cual nos indica que las dosis óptimas de suplementos orgánicos varían en cada especie. En todo caso, con nuestros resultados se obtuvo mayor peso fresco para *Dendrobium* sp.

En general se observó un buen crecimiento en las plántulas de *Dendrobium*, en tratamientos de AC y distintas dosis de BA, (Figura 3) se observó mayor número de brotes en los tratamientos ACEst 2.5, y ACFil 2.5 (Figura 3:C y D) respecto al testigo (Figura 3 A). Se observaron plántulas con mayor peso fresco en los tratamientos ACEst y ACFil+2.5 (Figura 3 B y C), respecto al testigo (Figura 3 A).

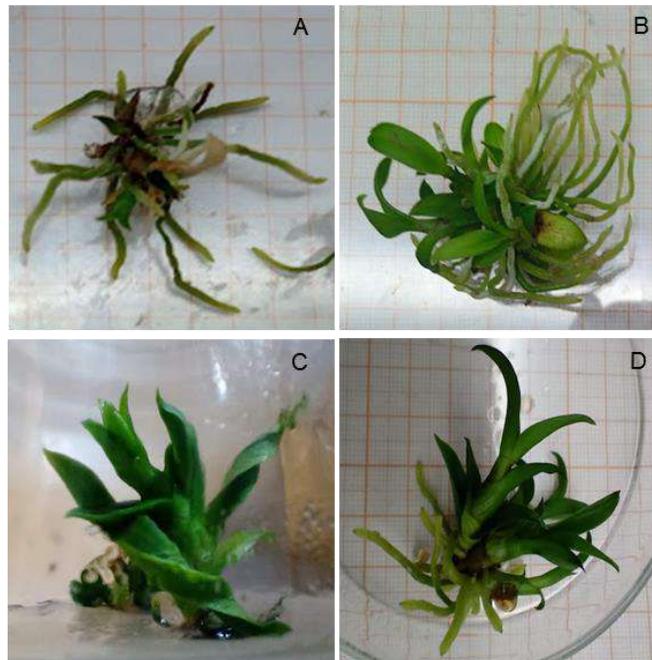


Figura 3. Plántulas de *Dendrobium* sp., en diferentes tratamientos de agua de coco y benciladenina. A) S/AC; B) ACEst; C) ACFil+2.5 D) ACEst+2.5.

CONCLUSIONES

El agua de coco esterilizada con 2.5 mg L⁻¹ de benciladenina incrementa el número de brotes de *Dendrobium* sp. En lo general, el agua de coco, esterilizada o filtrada, en combinación o no con benciladenina presentan mayor número de brotes en relación con el tratamiento donde no se usó ni agua de coco ni benciladenina. El agua de coco esterilizada sin benciladenina incrementa el peso fresco de la especie en estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Asghar, S., Ahmad, T., Hafiz, I. A., & Yaseen, M. (2011). *In vitro* propagation of orchid (*Dendrobium nobile*) var. Emma white. African Journal of Biotechnology, 10(16), 3097-3103.
2. Gonçalves, L. D. M., Prizão, E. C., Milaneze Gutierre, M. A., Mangolin, C. A., & Machado, M. D. F. P. D. S. (2012). Use of complex supplements and light-differential effects for micropropagation of *Hadrolaelia purpurata* (= *Laelia purpurata*) and *Encyclia randii* orchids. Acta Scientiarum. Agronomy, 34, 459-463. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i4.12333>
3. Jainol, J. E., & Jualang, A. G. (2015). *In vitro* shoot multiplication and rooting of shoot tip explants of *Dimorphorchis lowii*: an endemic orchid of Borneo. J. Trop. Plant Physiol, 7(2015), 14-25.
4. Lo, S. F., Nalawade, S. M., Kuo, C. L., Chen, C. L., & Tsay, H. S. (2004). Asymbiotic germination of immature seeds, plantlet development and *ex vitro* establishment of plants of *Dendrobium tosaense* makino-A medicinally imporant orchid. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 40, 528-535.

5. Pyati, A. N., Murthy, H. N., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2002). *In vitro* propagation of *Dendrobium macrostachyum* Lindl.-a threatened orchid.
6. Utami, E. S. W., & Hariyanto, S. (2019). *In vitro* seed germination and seedling development of a rare Indonesian native orchid *Phalaenopsis amboinensis* JJ Sm. *Scientifica*.
7. Utami, E. S. W., & Hariyanto, S. (2020). Organic Compounds: Contents and Their Role in Improving Seed Germination and Protocorm Development in Orchids. *International Journal of Agronomy*, 2795108. <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>
8. Yong, J. W. , Ge, I., Ng, Y. F. and Tan, S. N. (2009). Chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules*, vol. 14, no. 12, pp. 5144–5164.
9. Zhang, Y., Lee, Y. I., Deng, L., & Zhao, S. (2013). Asymbiotic germination of immature seeds and the seedling development of *Cypripedium macranthos* Sw., an endangered lady's slipper orchid. *Scientia Horticulturae*, 164, 130-136.
10. Giridhar, P., y G.A. Ravishankar. 2004. Efficient micropropagation of *Vanilla planifolia* Andr. under influence of thidiazuron, zeatin and coconut milk. *Indian Journal of Biotechnology* 3:113-118.

EVALUACIÓN DE UN HIDROGEL A BASE DE POLIACRILATO DE SODIO SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Phaseolus vulgaris L* (FRIJOL NEGRO)

Erika Toledo Trejo, Job Ramírez Pérez, Jennyfer Naydelin Vargas Linares, Emerson Isaac Aguilar Meza, Wendy Moreno Ramírez,

Universidad Tecnológica Fidel Velázquez
erika.toledo@utfv.edu.mx

RESUMEN

En este trabajo se realiza la evaluación de un hidrogel a base de poliacrilato de sodio elaborado por este equipo de investigación. La evaluación se está realizando sobre el crecimiento de plántulas de *Phaseolus vulgaris L* conocido como frijol negro (una de las especies forrajeras más importante en México) en condiciones de invernadero. Al momento se ha observado que el hidrogel presenta buenos valores de hinchamiento y el crecimiento de las plántulas es adecuado; se requiere seguir en la evaluación de costos de producción y utilidad en distintos tipos de suelo.

INTRODUCCIÓN

En México las sequías en los últimos tiempos han impactado la agricultura. De acuerdo con el Servicio Meteorológico Nacional (SMN), el 85 % del territorio mexicano sufre sequía en diferentes intensidades, siendo el noreste y norte del país los más afectados por este fenómeno recurrente y cada vez más agresivo; las actividades agropecuarias son las que se han visto principalmente afectadas, puesto que un 76.7 % del agua nacional es destinada a la agricultura y ganadería, mientras que para el consumo humano se destina el 14.2 % (Audelo, 2021).

Ante esta problemática una alternativa son los hidrogeles, estos materiales poliméricos de alto contenido en agua, posee una estructura cristalina de consistencia blanda y elástica, con una gran capacidad de absorción y que estas no se disuelven en ningún líquido. El carácter hidrofílico de estos materiales, se debe a la presencia de grupos compatibles con el agua, tales como -OH, -COOH, -CONH₂, -SO₃H (Lee, P. 1985).

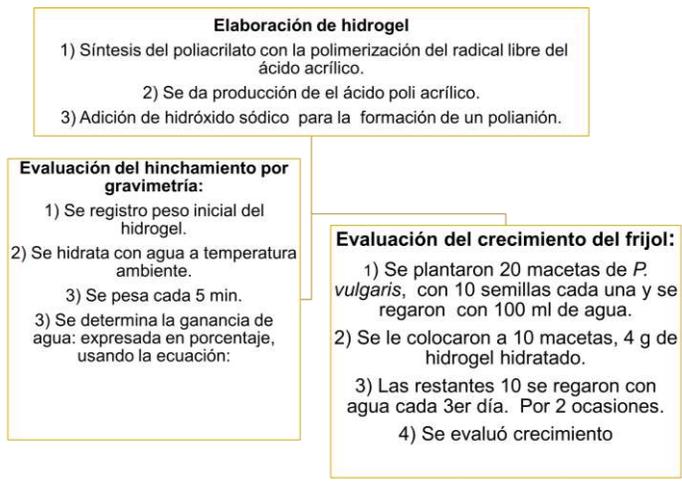
En esta investigación se realizó la evaluación de un hidrogel a base de poliacrilato de sodio sobre el crecimiento de plántulas de *Phaseolus vulgaris L* conocido como frijol negro (una de las especies forrajeras más importante en México), esto en condiciones de invernadero.

METODOLOGÍA

La síntesis del poliacrilato comienza con la polimerización del radical libre del ácido acrílico, para producir el ácido poli acrílico este puede ser convertido en un polianión mediante la reacción con una base como el hidróxido sódico además está formado por múltiples cadenas de compuestos de acrilato los cuales poseen una carga aniónica positiva que atrae moléculas a base de agua para combinarse con ellas (The University of Scranton , 2019).

La cinética de hinchamiento de los hidrogeles se estudió mediante la técnica gravimétrica, que es la más utilizada para la cuantificación del agua captada. El peso inicial del hidrogel fue registrado al pesarlo en una balanza y después el hidrogel fue hidratado con agua destilada a temperatura ambiente y fue pesado en una balanza cada 5 minutos para determinar la ganancia de peso, esto se repitió 7 veces y se determinó la cantidad de agua absorbida por los hidrogeles expresada en porcentaje, usando la ecuación:

$$\%Hinchamiento = \frac{W - W_0}{W_0} * 100$$



Elaboración de hidrogel

- 1) Síntesis del poliacrilato con la polimerización del radical libre del ácido acrílico.
- 2) Se da producción de el ácido poli acrílico.
- 3) Adición de hidróxido sódico para la formación de un polianión.

Evaluación del hinchamiento por gravimetría:

- 1) Se registro peso inicial del hidrogel.
- 2) Se hidrata con agua a temperatura ambiente.
- 3) Se pesa cada 5 min.
- 3) Se determina la ganancia de agua: expresada en porcentaje, usando la ecuación:

Evaluación del crecimiento del frijol:

- 1) Se plantaron 20 macetas de *P. vulgaris*, con 10 semillas cada una y se regaron con 100 ml de agua.
- 2) Se le colocaron a 10 macetas, 4 g de hidrogel hidratado.
- 3) Las restantes 10 se regaron con agua cada 3er día. Por 2 ocasiones.
- 4) Se evaluó crecimiento

RESULTADOS Y ANALISIS

Se realizó la prueba de hinchamiento del hidrogel encontrándose una hidratación superior al 90% y con un r2= 0.99, siendo muy buen indicativo para que este hidrogel pueda ser usado para captar agua y ser usado en agricultura (tabla 1).

Tiempo (min)	5	10	15	20	25	30	35
% Hidratación	14.3	28.8	43.3	57.7	61.5	83-4	99.3

Tabla1. Resultados de la hidratación registrada en el hidrogel.

Siguiendo el proceso de germinación y crecimiento de la semilla de *Phaseoulus vulgaris L* se observó que las macetas que contenían hidrogel se mantuvieron húmedas hasta el 5 día sin necesidad de agregar más agua. La germinación de las plantas fue primero en las que tenían hidrogel: 80% a los 3 días, el restante 20% a los 4 días, las plantas sin hidrogel empezaron a germinar hasta el 4to día, al día 4 en las macetas con hidrogel hubo crecimiento de raíces, al séptimo día el 100% de las plantas con hidrogel habían brotado de la tierra y con un promedio de largo aproximado de 6 cm, al día 9 la segunda planta germinada creció hasta alcanzar un largo de tallo de aproximadamente 10 cm (figura 1). El caso de las plantas sin hidrogel hasta el día 9 presentaron crecimiento de 6 cm.



Figura 1. Germinación de frijol con hidrogel.

CONCLUSIONES

En base a los datos recopilados del proyecto encontramos que la elaboración del hidrogel es sencilla, que presenta buen hinchamiento y que libera el agua de forma adecuada, lo que permitió la germinación y crecimiento más rápido en comparación a las plantas que no se expusieron al hidrogel y se regaron de manera tradicional. Este producto permitiría oportunidades para producir en terrenos poco fértiles, corremos pocos riesgos debido a que los hidrogeles retienen el agua y ayuda a que la planta lo absorba en el momento más oportuno. Recalcando su importancia en zonas áridas o bien en zonas con desabasto de agua. Es importante evaluar los gastos de producción a gran escala y evaluar el hidrogel en distintas condiciones de suelo.

BIBLIOGRAFIA

- Aesan. (2020, 21 diciembre). Aesan - Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. [aesan.gob.es](https://www.aesan.gob.es). Recuperado 14 de marzo de 2022, de https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subdetalle/acrilamida.htm
- Audelo, M. (2021). "Sequía en México: Causas, consecuencias y acciones para mitigarla." Gallbo - Firma Líder en Reclamación de Seguros. Recuperado 2 de marzo de 2022, de https://gallbo.com/blog/editorial-gallbo/sequia-en-mexico-causas-consecuencias-y-acciones-para-mitigarla.html?gclid=CjwKCAiAyPyQBhB6EiwAFUuakgvfZR40IDb5qK05FEtDsqa7-nX59UP8WTxcXFjy_OV5eGDpN0P16BoCFrgQAvD_BwE
- Bucholz, F.L. 1996. "Superabsorbent Polymers", J. Chem. 73, 512.
- Chemical Bonds Using Polymers To Understand Chemical Bonds. (s. f.). MRSEC Education Group. Recuperado 3 de marzo de 2022, de <https://education.mrsec.wisc.edu/chemical-bonds-using-polymers-to-understand-chemical-bonds/>
- Cl, F. (2018). Los hidrogeles de poliacrilato en la agricultura. PortalFruticola.com. <https://www.portalfruticola.com/noticias/2018/05/07/los-hidrogeles-de-poliacrilato-en-la-agricultura/>
- Orozco-Guareño, E., Hernández, S. L., Gómez-Salazar, S., Mendizábal, E., & Katime, I. (2011). Estudio del hinchamiento de hidrogeles acrílicos terpoliméricos en agua y en soluciones acuosas de ión plumboso. Revista mexicana de ingeniería química, 10(3), 465–470. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000300012
- Ortiz, E. (2006). SÍNTESIS y CARACTERIZACIÓN DE HIDROGELES OBTENIDOS a PARTIR DE ACRILAMIDA y METILCELULOSA. Revista Iberoamericana de Polímeros, 7(4), 247–248. <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/08/2006-ortiz.pdf>

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD REDUCTORA DE CR (VI) A CR (III) EN CULTIVOS POR *TRICHODERMA HARZIANUM* EN MEDIO LEE Y MEDIO MURASHIGE Y SKOOG

Natalia Fernanda Salazar Valdez, Luis Adrián Vargas Martínez, Eunice Yañez Barrientos, Katarzyna Wrobel, Kazimierz Wrobel, Alma Rosa Corrales Escobosa.

Universidad de Guanajuato. División de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Química.
nf.salazarvaldez@ugto.mx; alma_rce@ugto.mx

RESUMEN

Trichoderma harzianum es micoparásito ampliamente utilizado para el control biológico de microorganismos fitopatógenos y un bioestimulante que mejora el crecimiento de plantas y rendimiento de cultivos. Adicionalmente, algunas cepas de *Trichoderma* ofrecen tolerancia a las plantas contra el estrés abiótico, como la sequía y la salinidad, a través de un mayor crecimiento de las raíces, la inducción de protección contra el estrés oxidativo, así como la absorción nutricional, por ejemplo, al incrementar la solubilización de P y nutrientes esenciales. Por otra parte, el cromo es uno de los metales pesados más utilizados en los procesos industriales. El cromo existe en nueve estados de valencia que van desde -2 a $+6$. De estos estados, solo el cromo hexavalente [Cr (VI)] y el cromo trivalente [Cr (III)] son de importancia ambiental primaria porque son las formas de oxidación más estables en el medio ambiente. Los procesos biológicos, como la biorreducción, la bioacumulación o la biosorción utilizando células microbianas, han sido examinados por su capacidad de eliminación de Cr (VI). La reducción biológica de Cr (VI) a Cr (III) a través de procesos de biorreducción, bioacumulación y biosorción utilizando microorganismos y/o plantas es de gran interés porque este proceso no solo puede mitigar la toxicidad del cromo en los organismos vivos, sino que también puede ayudar al precipitar el cromo a un pH casi neutro en forma de $\text{Cr}(\text{OH})_3$. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del Cr (VI) en *T. harzianum* cultivada en dos medios de cultivo diferentes [medio Lee y medio Murashige y Skoog (MS)] y dos concentraciones (25 y 50 ppm de Cr (VI)). Después de 72 h de incubación se evaluó el crecimiento, la capacidad reductora mediante el método de difenil carbazida y la incorporación de Cr a biomasa mediante la digestión ácida de la biomasa y su determinación por espectroscopia de emisión atómica de plasma de microondas (MP-AES). Los resultados mostraron que cuando *T. harzianum* se cultivó en medio Lee en 50 ppm de Cr (VI) se inhibe el crecimiento en aproximadamente un 40% con respecto al control sin cromo y no hubo inhibición de crecimiento cuando el medio contenía 25 ppm de Cr(VI). Por otra parte, el crecimiento en el medio MS se inhibe cerca del 17% del crecimiento al llegar a las 25 ppm y al duplicar esta concentración, la cepa no puede crecer. Así mismo, en todas las condiciones probadas *T. harzianum* reduce el Cr(VI) casi en su totalidad, por lo que se puede considerar una cepa bioreductora. Con el análisis Cr por MP-AES en biomasa y de medio se pudo observar que un 80% del cromo total inicialmente en el medio permanece presente de forma reducida, mientras que el resto es capturado por la biomasa.

INTRODUCCIÓN

Desde la revolución industrial, las actividades antropogénicas han liberado al ambiente muchos desechos contaminantes tóxicos entre los que se incluye a los metales pesados. La contaminación por metales pesados es uno de los problemas ambientales más graves en el suelo y agua debido su gran magnitud causada por la toxicidad, persistencia, bioacumulación y biomagnificación a lo largo de la cadena alimentaria, pudiendo suponer una grave amenaza para los organismos vivos en bajas concentraciones. La fitorremediación es una tecnología empleada en los últimos años para eliminar/contener diversos contaminantes. Sin embargo, las nuevas aplicaciones de

microorganismos asociados a plantas han abierto áreas prometedoras de investigación en el área de fitorremediación [1]. En general, los microbios benéficos asociados a las plantas mejoran la eficiencia del proceso de fitorremediación directamente al alterar la acumulación de metales en los tejidos de las plantas e indirectamente al promover la producción de biomasa de brotes y raíces. Algunos de los hongos que pueden ser utilizados en el proceso de fitorremediación son especies del género *Trichoderma*, extremadamente comunes en la naturaleza, con potencial de colonización diversos ambientes [2]. Diversas cepas del género de *Trichoderma* han reportado descomponer desechos vegetales, biodegradar compuestos sintéticos y bioacumular grandes cantidades de diferentes metales de las aguas residuales y suelo. Diferentes estudios muestran que diversas especies de *Trichoderma* puede tolerar y reducir las concentraciones de cromo por mecanismos de biosorción. Vendruscolo et al (2017)[3] reportaron en el una cepa de *Trichoderma* spp. que es capaz de tolerar valores de Cr (VI) superiores a 10,000 mg/L . Por otra parte, Vukelyk et al. 2020 [4] , reportó que en plantas de tomate inoculadas con *T. harzianum*, se redujeron los contenidos de Cr y Ni en las raíces, mientras que los contenidos de Cd disminuyeron en todas las partes de la planta. Cabe señalar que la capacidad de tolerancia/reducción/biosorción depende tanto de la cepa como de las condiciones de cultivo [5]. Por lo anterior, en este estudio se evalúa capacidad reductora y/biocumuladora Cr (VI) por una cepa comercial de *T. harzianum* utilizada como biofungicida y estimulante de crecimiento de plantas. La importancia de este estudio contribuye al derecho de la sociedad, que es vivir en un medio ambiente de calidad.

OBJETIVOS

Evaluar el efecto del Cr(VI) sobre el crecimiento de una cepa de *T. harzianum* cultivada en dos medios de cultivo diferentes [medio Lee y medio Murashige y Skoog (MS)] y dos concentraciones (25 y 50 ppm de Cr(VI)).

Determinar la capacidad de reducción y/o bioacumulación de Cr (VI) por *T. harzianum*.

PARTE EXPERIMENTAL

Condiciones de cultivo.

Se partió de una cepa de *T. harzianum* que es utilizada comercialmente como biofungicida, estimulante del crecimiento vegetal y productor de hormonas reguladoras del crecimiento. Para obtener las conidias, se partió de estriado de conidias en medio PDA y después de una semana de incubación a 28 °C y se obtuvieron las conidias frescas mediante lavado con agua.

Para conocer si el medio de cultivo tiene un efecto sobre crecimiento de *T. harzianum* y la capacidad de reducción y/o biosorción de Cr (VI), se utilizaron dos medios de cultivo: el medio Lee modificado que es un medio mínimo típico para el crecimiento de hongos y el medio Murashige y Skoog (MS) utilizado para el crecimiento de plantas. A ambos medios se les adicióno glucosa al 0.5 %. Los cultivos fueron llevados a cabo por triplicado en matraces de 125 mL que contenían 25 mL de medio a los cuales se les adicióno 0, 10, 25 y 50 mg L⁻¹ de Cr (VI) en forma de K₂Cr₂O₇ y una concentración inicial de 1 x 10⁶ conidias mL⁻¹ e incubados a 28 °C, 150 rpm por 72 h. Una vez transcurrido el tiempo se recuperó el medio de cultivo remanente y la biomasa fue liofilizada.

Determinación de Cr (VI) en medio de cultivo por el método de difenil carbazida.

Para evaluar la capacidad de reducción de Cr (VI) por la cepa de *T. harzianum* se determinó la concentración Cr (VI) al inicio y después de 72 horas de incubación en el medio de cultivo por el método de la difenilcarbazida. El método se basa en una reacción de óxido reducción donde el cromo hexavalente Cr (VI) que reacciona con la 1,5-difenilcarbazida en medio ácido para formar el complejo Cr (III) y 1,5-difenilcarbazona de color violeta que se lee espectrofotométricamente a 540 nm [6]. Brevemente, la determinación se llevó a cabo en una microplaca de 96 pocillos de la siguiente manera: se prepara una curva de calibración adicionando de manera individual 25 μ L de estándar de Cr (VI) en un rango de 0.0 a 5 mg \cdot L⁻¹. Para la determinación de Cr (VI) en el medio de cultivo se utilizaron 25 μ L medio (inicial y después de 72 h de cultivo). Posteriormente a cada pocillo se le adicionó 25 μ L de difenilcarbazida a 50 mg/mL preparada en acetona y 12.5 μ L de H₂SO₄ 1N y se ajustó a un volumen 250 μ L con agua. La placa fue incubada por 15 min y se leyeron las muestras a 540 nm

Determinación de cromo total en biomasa y medio de cultivo por MP-AES.

Para la cuantificación de cromo total en biomasa y medio de cultivo se llevó a cabo la digestión ácida. Para ello, se peso 20 mg de biomasa o 1 mL medio de cultivo y se le adiciono 0.5 mL de HNO₃ y se incubo inicialmente a 70 °C por 0.5 h y posteriormente se subió a 120 °C de 1 a 2 h. Posteriormente, a cada tubo se le adicionó 0.5 mL de H₂O₂ y se incubo 120 °C por 2 h. Una vez obtenidos las muestras mineralizadas, se diluyeron y fueron analizadas mediante la técnica analítica MP-AES (Espectrometría de emisión atómica con plasma de microondas, por sus singlas en inglés). La cuantificación se llevó a cabo mediante el método calibración externa en un rango de 0 a 2 mg \cdot L⁻¹ seleccionando las λ = 425.433 nm y 427.480 nm para Cr [7].

RESULTADOS

Evaluación del crecimiento de *T. harzianum* cultivada en medio mínimo Lee y/o MS con diferentes concentraciones de Cr (VI).

En la figura 1, se presenta el efecto 10, 25 y 50 mg L⁻¹ del Cr (VI) sobre *T. harzianum* después de 72 horas de cultivo en medio mínimo Lee y MS. Cuando *T. harzianum* se cultivó en medio Lee con 50 ppm de Cr (VI) se inhibe el crecimiento en aproximadamente un 40% con respecto al control sin cromo, sin embargo, cuando el medio contenía concentraciones de 10 y 25 mg L⁻¹ de Cr (VI) prácticamente no hubo inhibición de crecimiento. Por otra parte, *T. harzianum* no puede crecer en medio MS a concentraciones de 50 mg L⁻¹ del Cr (VI) y se inhibe cerca del 17% del crecimiento a 25 mg L⁻¹, mientras que 10 mg L⁻¹ del Cr (VI) no presenta efecto en el crecimiento. Por lo tanto, la composición del medio de cultivo influye en tolerancia/resistencia de *T. harzianum*.

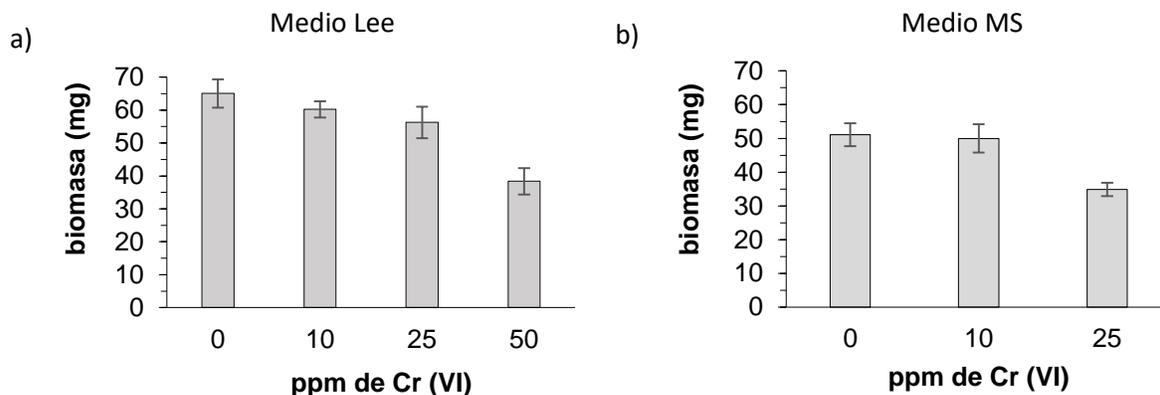


Fig. 1. Biomasa de *T. harzianum* obtenida del crecimiento en: a) medio Lee y b) medio MS expuesta a diferentes concentraciones de Cr (VI) después de 72 h de cultivo.

Determinación de Cr (VI) en medio de cultivo.

Se evaluó la capacidad de reducción Cr (VI) por *T. harzianum* en los dos medios de cultivo utilizados (Lee y MS) antes de la inoculación y después de 72 horas de cultivo. En la Tabla 1 se presenta los resultados de la cuantificación de Cr (VI), observándose una completa eliminación después de 72 h de cultivo, excepto para 50 mg L⁻¹ en medio MS, sin embargo, en esta condición cabe señalar que no hay crecimiento.

Tabla 1. Determinación de Cr (VI) en medio de cultivo

	Condición de exposición a Cr (VI)		
	10 ppm	25 ppm	50 ppm
Medio Lee			
Cr Inicial (T 0 h)	9.5	27.5	54.0
Cr remanete (T 72 h)	ND	ND	ND
Medio MS			
Cr (VI) inicial (T0 h)	10.1	24.8	52.0
Cr (VI) remanete (T 72 h)	ND	ND	52.0

ND. No detectado

Determinación de cromo total por MP-AES en biomasa y medio de cultivo

Se cuantifico la cantidad de cromo total unido a biomasa por MP-AES. En figura 2 a se observa que a mayor concentración de Cr en el medio hay mayor acumulación de Cr en biomasa en ambos medios de cultivo. Cuando hay 10 mg L⁻¹ de Cr (VI) en el medio de cultivo, hay alrededor de 0.5 mg de Cr/g de biomasa en ambos medios de cultivo (Fig. 2a y 2b). Mientras que a 25 mg L⁻¹ de Cr (VI)

en el medio de cultivo, la captación de Cr en la biomasa fue de 1.4 y 2.0 mg de Cr/g de biomasa en medio Lee y MS respectivamente.

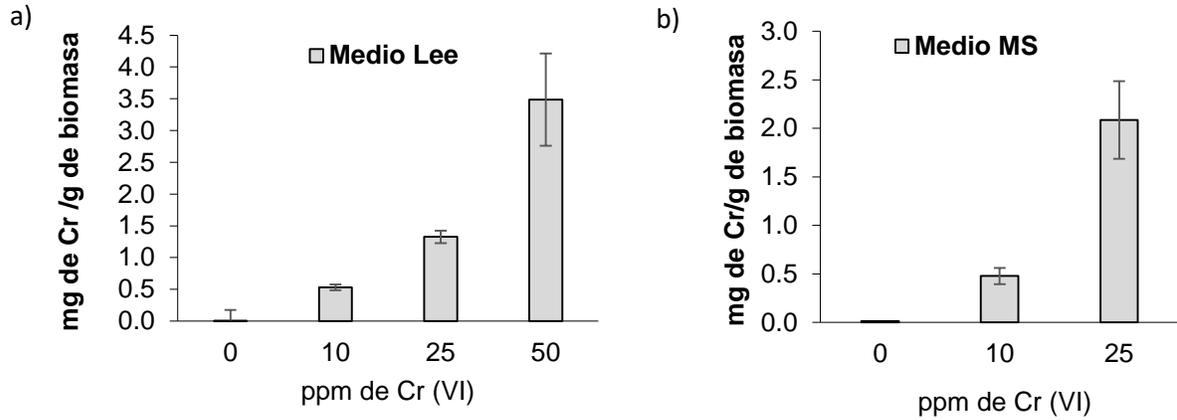


Fig. 2. Determinación de Cr total en biomasa obtenida de cultivos de 72 h y expuesta a diferentes concentraciones de Cr (VI) en: a) medio Lee y b) medio MS.

La determinación de cromo total en el medio mostro una ligera disminución de los valores iniciales en ambos medios (figura 3a y 3b). Lo que indica que el cromo se redujo y principalmente se encuentra en el medio de cultivo.

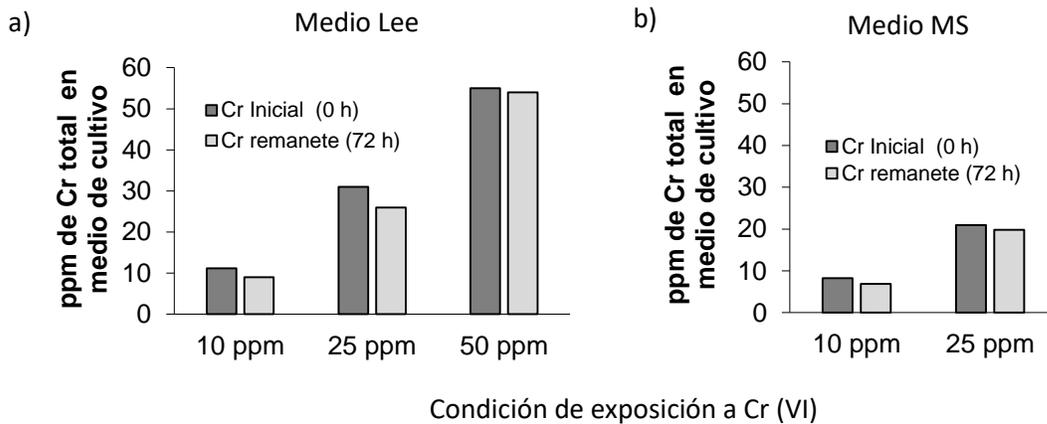


Fig. 3. Cr total determinado por MP-AES en medio Lee antes (Cr Inicial, T 0 h) y después de 72 h de cultivo.

Con el análisis Cr por MP-AES en biomasa y de medio de cultivo gastado se pudo observar que aproximadamente un 80% del cromo total inicialmente en el medio permanece presente de forma reducida, mientras que el resto es capturado por la biomasa cuando se cultiva con 10 y 25 mg L⁻¹ de Cr (VI) en medio Lee y 10 mg L⁻¹ de Cr (VI) en medio MS. La captación se ve drásticamente disminuida cuando hay 50 y 25 mg L⁻¹ de Cr (VI) en medio Lee y MS, respectivamente (Fig. 4)

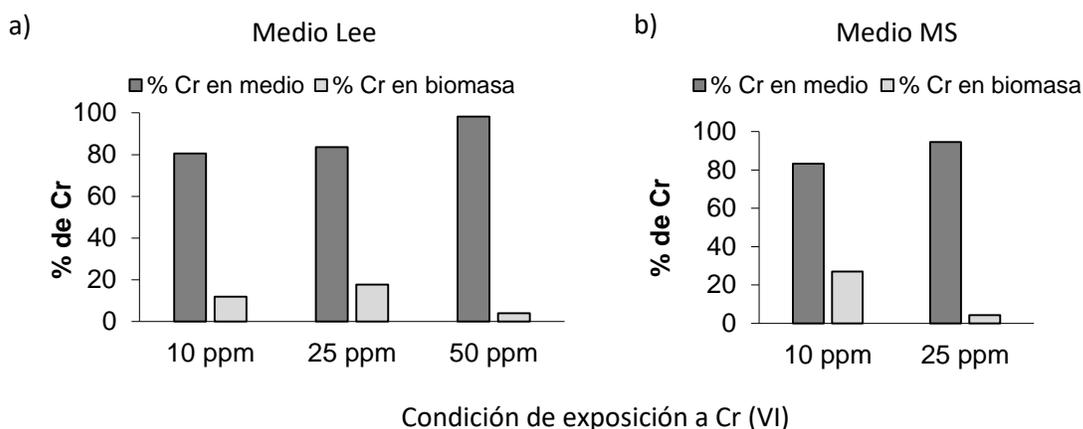


Fig. 4. Porcentaje de cromo en medio y biomasa después de 72 h de cultivo. a) medio Lee y b) Medio MS.

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que el crecimiento de *T. harzianum* es afectada de manera diferencial según el medio de cultivo (en este caso Lee y MS), siendo más significativo el efecto en medio MS, ya a 50 mg L⁻¹ de Cr (VI) la cepa es incapaz de crecer, mientras que cuando se cultivó en medio Lee con 50 mg L⁻¹ de Cr(VI) el crecimiento es aproximadamente un 40% menor con respecto al control sin cromo y no hubo inhibición de crecimiento cuando el medio contenía 25 ppm de Cr(VI). Así mismo, en todas las condiciones probadas *T. harzianum* reduce el Cr(VI) casi en su totalidad, por lo que se puede considerar una cepa biorreductora. Con el análisis Cr por MP-AES en biomasa y de medio se pudo observar que un 80% del cromo total inicialmente en el medio permanece presente de forma reducida, mientras que el resto es capturado por la biomasa.

BIBLIOGRAFÍA

1. JEYAKUMAR, P., et al., *Trends in Bioremediation of Heavy Metal Contaminations*. Environmental Engineering Research, 2023. 28(4).
2. Vankar, P.S. and D. Bajpai, *Phyto-remediation of chrome-VI of tannery effluent by Trichoderma species*. Desalination, 2008. 222(1-3): p. 255-262.
3. Vendruscolo, F., G.L. da Rocha Ferreira, and N.R. Antoniosi Filho, *Biosorption of hexavalent chromium by microorganisms*. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017. 119: p. 87-95.
4. Vukelic, I., et al., *Effect of Trichoderma harzianum on morpho-physiological parameters and metal uptake of tomato plants*. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 2020. 2020: p. 61-71.

5. Tello-Galarreta, F.A., et al., *In Vitro Effect of Molasses Concentration, pH, and Time on Chromium Removal by Trichoderma spp. from the Effluents of a Peruvian Tannery Processes*, 2023. 11(5): p. 1557.
6. ALONSO, A.C., et al., *A rapid, eco-friendly, and reliable microplate method for determination of Cr (VI)*. Turkish Journal of Chemistry, 2017. 41(3): p. 420-425.
7. Gonzalez Ibarra, A.A., et al., *Changes of Metabolomic Profile in Helianthus annuus under Exposure to Chromium (VI) Studied by capHPLC-ESI-QTOF-MS and MS/MS*. Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2017.

CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS BACTERIANOS DE SUELO DE LA SIERRA DE LOS AGUSTINOS

Lucero Alejandra Gonzalez Tejeda, Ricardo Hernández Martínez, Rafael Alejandro Veloz García y Blanca Estela Gómez Luna

Universidad de Guanajuato
la.gonzaleztejeda@ugto.mx

RESUMEN

La agricultura es uno de los principales motores de desarrollo de nuestro país, por lo que su escalamiento ha representado un crecimiento económico nacional que ha beneficiado a un elevado sector de la población mexicana. Sin embargo, esto ha forzado a los productores a recurrir a la agricultura intensiva y a la aplicación desmedida de agroquímicos, afectando así la sustentabilidad y calidad de los suelos y comprometiendo sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas. Debido a esto, se han buscado alternativas más amigables con el medio ambiente que sean más fáciles de aplicar, que ayuden a mantener la biodiversidad y estructura de los suelos y que no presenten toxicidad ni bioacumulación. Actualmente, el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPR) ha demostrado ser una buena opción a esto, por lo que en este trabajo se buscó aislar y purificar PGPR provenientes del Área Natural Protegida de la Sierra de los Agustinos en el estado de Guanajuato y probar su potencial en: índice de vigorosidad, en el porcentaje y reducción del tiempo de germinación de semillas de lentejas. Se obtuvieron 52 cepas bacterianas mediante diluciones seriadas de muestras de suelo y de las cuales 16 demostraron superar el porcentaje de germinación e índice de vigorosidad frente al control. Las cepas aisladas tienen un potencial como biofertilizantes en semillas de lenteja y representan una alternativa ecológica frente al uso de agroquímicos.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la agricultura representa una de las actividades humanas más demandadas a nivel global, pues no solo es la principal fuente de alimentos tanto para personas como para animales destinados al consumo humano, sino que también es un promotor esencial en el crecimiento económico de los países. De acuerdo con la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), en el 2022 se registró en México una alza del 15 por ciento en el sector agroalimentario, fortaleciendo la economía nacional y desempeñando un papel fundamental a nivel global al incrementar sus exportaciones y atracción de la inversión extranjera al país (SADER, 2022).

Sin embargo, en los últimos años la agricultura ha encontrado una creciente presión derivada por el aumento poblacional, así como los patrones insostenibles de producción y consumo global Fuente especificada no válida.. Debido a esto, los productores han tenido que recurrir a la agricultura intensiva para poder suplir las demandas tan elevadas de alimentos en plazos límite de tiempo, afectando así la sustentabilidad y calidad de los suelos, comprometiendo sus propiedades fisicoquímicas y microbianas que le permiten ser fértil y producir productos sanos Fuente especificada no válida..

Actualmente, la aplicación y el uso indiscriminado de agroquímicos necesarios para el control de plagas y aumento de fertilidad en los suelos ha comprometido la calidad de los ecosistemas en los que se aplica, arrastrándose a través de corrientes de agua y aire que permiten su transporte; además sus residuos llegan a ser volátiles, llegando a la atmósfera y regresando nuevamente a la tierra a otros lugares Fuente especificada no válida..

Otro problema derivado de este uso son los efectos negativos que tiene en la salud humana. La exposición de los agricultores a la aplicación de agroquímicos es peligrosa para su salud en varios aspectos. Las enfermedades cardiovasculares están directamente relacionadas con esta exposición y pueden provocar infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), accidentes cerebrovasculares, arritmia y muerte súbita. El estrés oxidativo de estos insumos agrícolas, combinado con su transporte a través de la sangre hace que el corazón sea uno de los órganos más expuestos a los riesgos de los agroquímicos Fuente especificada no válida.. Además, estudios demuestran que la prevalencia de intoxicación por organofosforados debido a la exposición creciente de agricultores a agroquímicos, además de bioacumulación de pesticidas en la ropa de quienes aplican el producto, inhalación y contacto directo con la piel cuando no hay un uso correcto del equipo de protección individual Fuente especificada no válida.Fuente especificada no válida..

Por esta razón, se han buscado alternativas que puedan remplazar a los agroquímicos, encontrándose en este campo el uso de biofertilizantes, los cuales son ecológicos, no presentan toxicidad al ambiente ni bioacumulación, son fáciles de aplicar y ayudan a mantener la biodiversidad y estructura de los suelos agrícolas Fuente especificada no válida.. Y es por esto por lo que se han empleado rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas, mejor conocidas como PGPR debido al acrónimo "Plant Growth Promoting Rhizobacteria".

Las bacterias promotoras de crecimiento son importantes en el control de enfermedades y la mejora del crecimiento en una variedad de cultivos. Los microbiomas pueden inducir resistencia en plantas a muchos de sus patógenos, mejorar las propiedades químicas del suelo y la calidad de los cultivos Fuente especificada no válida.. Además, investigaciones recientes han demostrado que el manejo de las comunidades microbianas de la rizosfera ayuda en el control de las enfermedades de las plantas Fuente especificada no válida.. Las bacterias endofitas y rizosféricas tienen un efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas y las actividades antifúngicas tanto directa como indirectamente antagonistas antifúngicos Fuente especificada no válida..

Estas bacterias tienen mecanismos de acción que les ayudan a la promoción vegetal y que son clasificados en directos e indirectos. En el primero, los mecanismos más destacados son: la fijación del nitrógeno, síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas, solubilización de fósforo inorgánico y mineralización de fosfato orgánico, oxidación de sulfuros y la actividad de la enzima ACC desaminasa Fuente especificada no válida., la cual disminuye los niveles de etileno en la planta metabolizando su precursor en una fuente de carbono y nitrógeno para utilizarlo como fuente de alimento Fuente especificada no válida..

Se le conoce como Áreas Naturales Protegidas (ANP) a aquellos suelos que no han sido alterados por el hombre ni han sido comprometidas sus propiedades fisicoquímicas por acciones antropogénicas, conservando intactas las comunidades de microorganismos que la habitan y los cuales desarrollan diversas funciones importantes que influyen en la calidad y salud del suelo y los ecosistemas, tales como la degradación de materia orgánica, reciclado y disponibilidad de nutrientes, formar asociaciones simbióticas con plantas, mejorar su tasa fotosintética, desarrollar defensas contra fitopatógenos, entre otras cosas Fuente especificada no válida..

La Sierra de los Agustinos, localizada en el estado de Guanajuato entre los municipios de Jerécuaro, Tarimoro y Acámbaro, es una ANP en la categoría de área de uso sustentable que, de acuerdo con la Secretaría de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial (SMAOT) es una importante habitat para la flora y fauna silvestre del estado, albergando 58 especies en estatus de protección y/o endémicas.

Las PGPR generalmente abundan en suelos de las ANP debido a que son ambientes originales que no han sido alterados por actividades humanas o que requieren ser preservadas y/o restauradas

Fuente especificada no válida.. En el presente trabajo, se utilizaron PGPR provenientes de un área natural protegida del estado de Guanajuato para evaluar su capacidad para incrementar el porcentaje de germinación y el índice de vigorosidad en semillas de lenteja.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente estudio se realizó en el laboratorio de investigación de la Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra de la sede Mutualismo.

Muestreo del suelo

Se obtuvieron muestras de suelo recuperadas de la zona radical de árboles de encino pertenecientes al ANP "Sierra de los Agustinos" del estado de Guanajuato (20°13'24.2"N 100°42'29.1"W), de las cuales se obtuvieron un kilogramo de suelo de seis puntos diferentes de tres árboles separados entre sí y que presentaban buena salud y vigorosidad. La muestra se extrajo escarbando a partir de diez centímetros de la base del tronco y se guardaron en bolsas de plástico para su traslado.

Aislamiento, purificación y actividad de AAC desaminasa

Las muestras de suelo se dejaron secar y posteriormente se redujeron de tamaño con la ayuda de los tamices No. 14 y 20, lo que permitió retirar restos de hojarasca, raíces y piedras. Posteriormente, se prepararon tres diluciones con 90 ml de agua estéril a las que se le añadieron 10 gr del suelo, se agitaron a 240 rpm durante 2 hrs y se dejaron sedimentar por media hora. Se prepararon 500 ml del medio selectivo Dworkin-Foster modificado por Penrose y Glick Fuente especificada no válida. con ACC, el cual contiene para un litro: 4 g de KH_2PO_4 , 6 g de NaHPO_4 , 0.2 g de MgSO_4 , 1 mg de FeSO_4 , 10 mg de H_3BO_3 , 10 mg de MnSO_4 , 50 mg de CuSO_4 , 10 mg de MoO_3 , 70 mg de MgSO_4 , glucosa 0.2%, ácido glucónico 0.2%, ácido cítrico 0.2%, 20 g de agar bacteriológico y 0.3 g de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC). Este último se filtra por separado a través de una membrana Millipore. Para la siembra se empleó un sembrador en placa semiautomático Automatic Spiral® Sample Plater, utilizándose 50 μl con modo exponencial. Se incubaron a 30°C por cinco días en el medio selectivo hasta que crecieron las bacterias con actividad ACC desaminasa. Estas cepas fueron recuperadas y se purificaron en medio PDA (Papa Dextrosa Agar) por estría cruzada. Finalmente, toda la colección se volvió a sembrar en el medio Dworkin-Foster para corroborar su capacidad de producir la enzima ACC desaminasa.

Tinción de Gram

Se realizó un frotis de cada aislado, colocando una asada con el inóculo sobre el portaobjetos. Una vez seco, se le agregaron unas gotas de cristal violeta y se dejó que actuara por un minuto, se escurrió el colorante y se enjuagó con agua destilada. Posteriormente, se cubrió con lugol y, esperando nuevamente un minuto, se hizo un lavado con agua para aplicar inmediatamente alcohol-acetona 1:1, deteniendo la reacción inmediatamente con agua. Finalmente, se aplicó safranina por un minuto y se escurrió lavándose con agua. Para la visualización de su morfología, se utilizó el objetivo 100X de un microscopio electrónico.

Pruebas de germinación

Se preparó por cada aislado un inóculo en 10 ml de Caldo Papa Dextrosa y se puso en agitación constante por 24 hrs a 150 rpm en 22°C. Posteriormente se lavaron 25 semillas de lenteja por cada aislado y se desinfectaron con alcohol etílico al 70% (v/v) por 20 segundos y posteriormente con agua estéril durante 30 segundos. Las semillas se embebieron con el caldo de bacterias en agitación constante por 30 minutos a 240 rpm. Una vez finalizado las semillas se llevaron a cajas Petri con

papel húmedo estéril, las cuales fungieron como cámaras húmedas. Se dejaron germinar durante 7 días en un ambiente con luz óptima, con una temperatura no mayor a 30°C y se regaron cada dos días con 1.5 ml de agua.

El porcentaje de germinación fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Germinación} = \frac{(100 \times \text{no. de semillas germinadas})}{\text{no. de semillas totales}}$$

El índice de vigorosidad fue calculado de la siguiente forma:

$$\text{Índice de vigorosidad} = \text{promedio de la longitud de las plantulas} \times \% \text{ Germinación}$$

Una vez evaluadas todas las cepas, se realizó un promedio junto con los controles para repetir el experimento con los mejores resultados, tomando esta vez 50 semillas en lugar de 25. La medición de las plántulas fue medida con software de procesamiento de imagen ImageJ.

RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 52 cepas que demostraron poseer actividad de la enzima ACC desaminasa, de las cuales 26 presentaron un crecimiento de biomasa superior al resto. En la Figura 1 se observa la comparación entre la actividad enzimática de cada aislado:

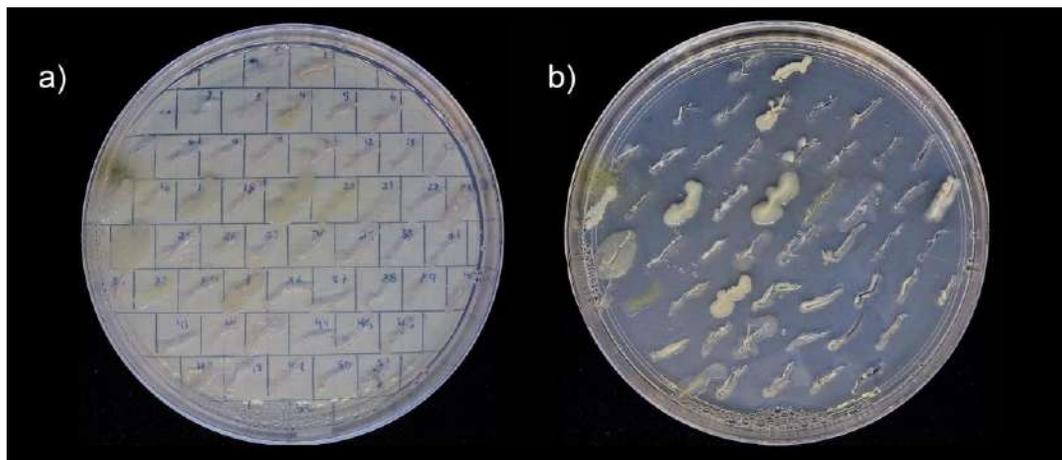


Figura 1. Aislados con producción de la enzima ACC desaminasa. En a) se observa la numeración y posición de cada cepa y en b) la biomasa producida.

Además, gracias a la tinción de Gram, se pudo determinar su morfología, obteniendo 26 aislados Gram positivo y 26 Gram negativo, encontrándose que la mayoría de las bacterias son de tipo bacilo, como se observa en la Figura 2. En la Tabla 1 se observan los resultados de la tinción de Gram:

Tabla 8 Características de los aislados observadas mediante tinción de Gram

Gram +				Gram -			
Cepa	Morfología	Cepa	Morfología	Cepa	Morfología	Cepa	Morfología
400	Bacilos	420	Bacilos	402	Bacilos	436	Diplobacilos
401	Bacilos	421	Bacilos	408	Bacilos	438	Cocos
403	Cocos	422	Cocos	413	Bacilos	439	Diplobacilos
404	Cocos	423	Cocos	415	Bacilos	440	Diplobacilos
405	Bacilos	424	Bacilos	417	Bacilos	441	Bacilos
406	Bacilos	426	Bacilos	418	Cocos	442	Diplobacilos
407	Cocos	427	Cocos	419	Bacilos	444	Bacilos
409	Bacilos	430	Bacilos	425	Bacilos	445	Diplobacilos
410	Bacilos	431	Bacilos	428	Bacilos	446	Bacilos
411	Cocos	435	Bacilos	429	Diplobacilos	447	Cocos
412	Cocos	437	Bacilos	432	Diplobacilos	448	Bacilos
414	Cocos	443	Cocos	433	Bacilos	449	Bacilos
416	Bacilos	451	Bacilos	434	Diplobacilos	450	Bacilos

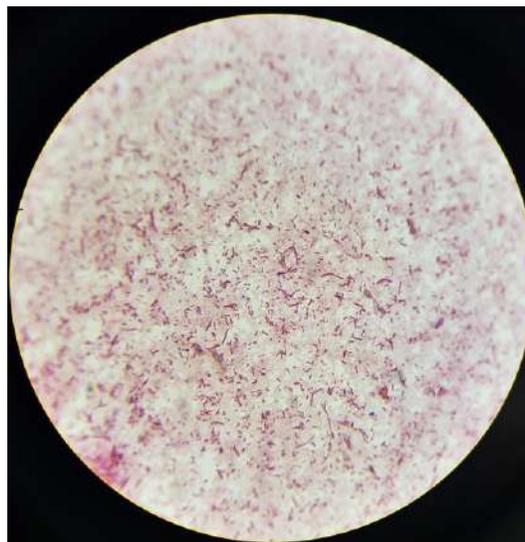


Figura 2 Muestra de bacteria Gram negativo de tipo bacilo (cepa 413).

La promoción de crecimiento en plantas mostró que 30 de 52 aislados tuvieron un mayor porcentaje de germinación respecto al control, la cual tuvo una germinación del 33%. Por otro lado, las 30 cepas antes mencionadas tuvieron una germinación arriba del 36%. Sin embargo, solo 27 aislados pudieron superar al índice de vigorosidad que reportaba el control. En el Gráfico 1 se presentan los resultados de esta prueba.

En la segunda prueba de germinación, se tomaron las cepas que destararon en el porcentaje de germinación e índice de vigorosidad, siendo 27 cepas las seleccionadas. De estas, solo 16 lograron superar el porcentaje de germinación del control, el cual era de 44%, obteniendo estos una germinación arriba del 46%. En esta prueba se destaca por sobre todas las demás la cepa 413, tanto en sus valores de germinación como en el índice de vigorosidad. En el Gráfico 2 se presentan los resultados de estas pruebas.

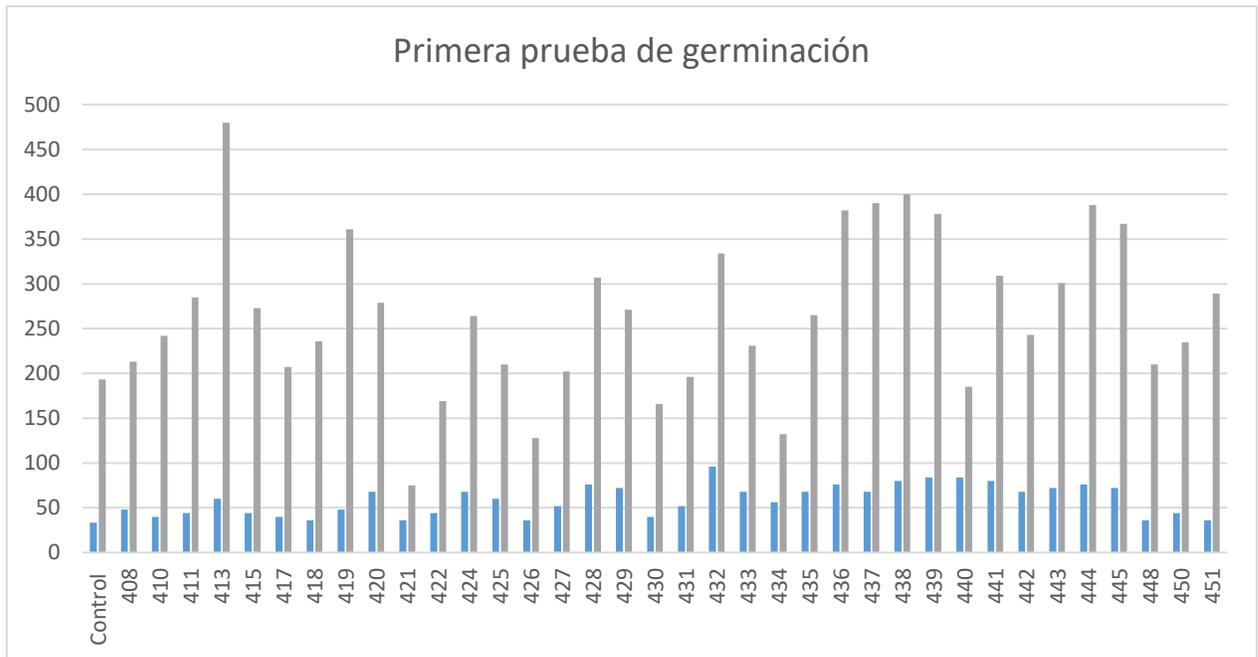


Gráfico 1 Resultados de las mejores cepas de la primera prueba, en donde las gráficas de color azul representan el porcentaje de germinación y las gráficas de color verde el índice de vigorosidad.

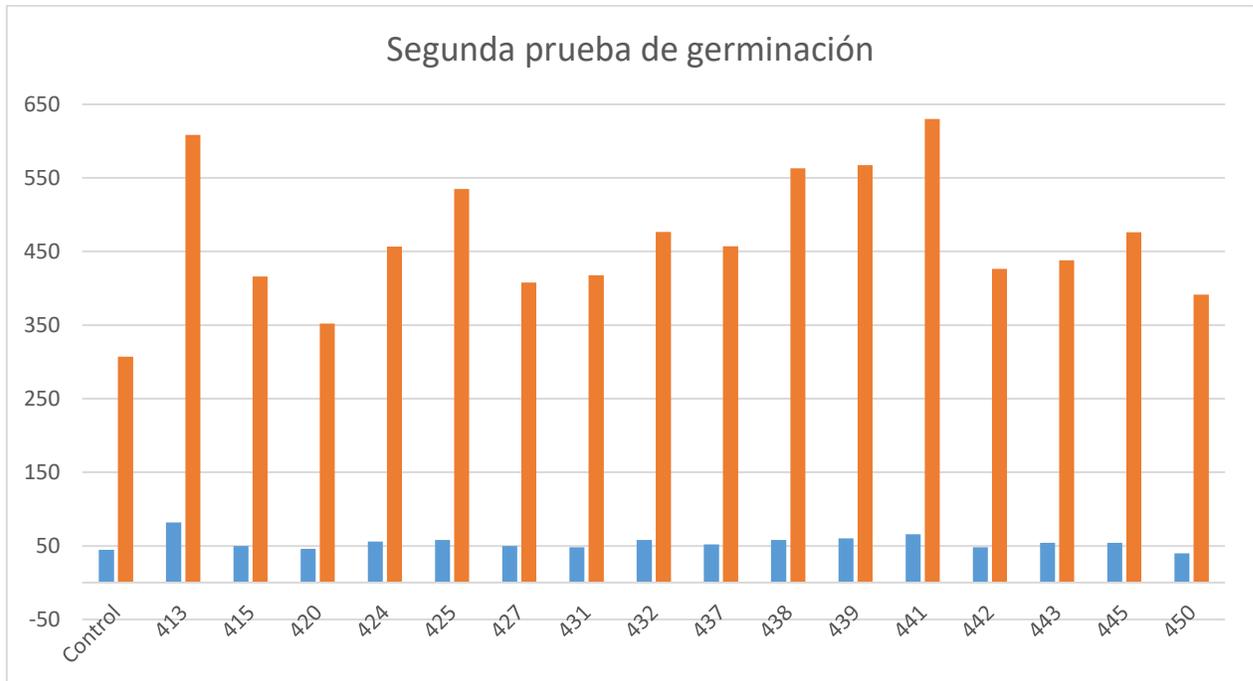


Gráfico 2 Resultados de las mejores cepas de la segunda prueba, en donde las gráficas de color azul representan el porcentaje de germinación y las gráficas de color rojo el índice de vigorosidad.

Otra característica importante fue la presencia de pelos radiculares en las cepas con mejores índices de vigorosidad, así como una mayor extensión en el área radicular. En la Figura 3 se presentan algunos ejemplos de estas características.

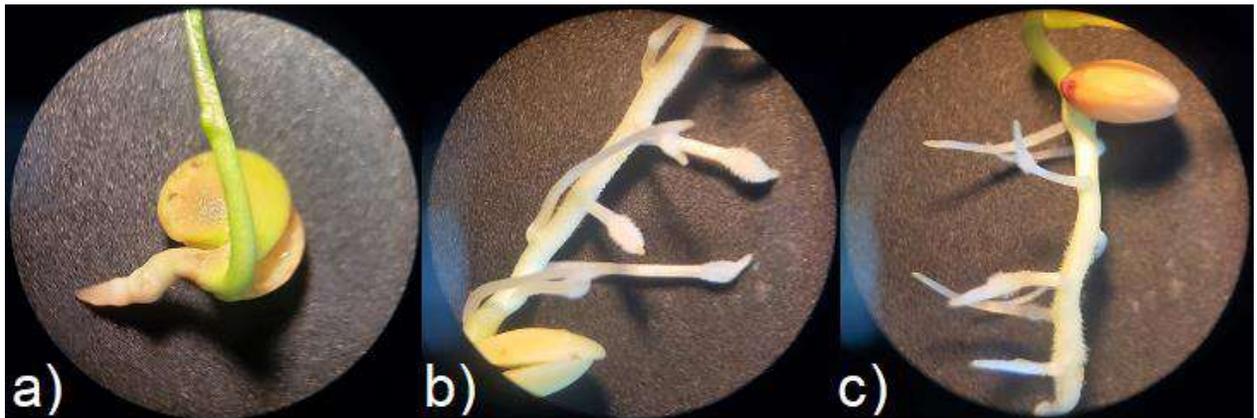


Figura 3 Fotografías del tallo y área radicular de: a) Control, b) cepa 413 y c) cepa 441. Nótese que en b) y c) se observa la presencia de pelos radiculares, así como una mayor longitud en la radícula.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo nos indican que la aplicación de bacterias provenientes de Áreas Naturales Protegidas en semilla de lentejas puede poseer un potencial biotecnológico beneficioso al aumentar el porcentaje de germinación, vigorosidad en plántulas, longitud del tallo y

desarrollo de pelos radiculares, los cuales aumentan el área de espacio para la toma de agua y nutrientes del suelo.

Asimismo, nos demuestran la importancia del mantenimiento y conservación de los microbiomas originarios de Áreas Naturales Protegidas, ya que estos pueden llegar a ser una pieza clave para la formulación de alternativa a los fertilizantes químicos y que sean más amigables con el medio ambiente y la salud de las personas.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] K. Roy, T. K. Dey, M. Jamal, R. Rathanasamy, M. Chinnasamy, and M. E. Uddin, "Fabrication of graphene oxide–keratin–chitosan nanocomposite as an adsorbent to remove turbidity from tannery wastewater," *Water Science and Engineering*, 2023, doi: 10.1016/j.wse.2022.12.003.
- [2] A. Kowalik-Klimczak et al., "Application of an Integrated System of Thermal Pressure Hydrolysis/Membrane Techniques to Recover Chromium from Tannery Waste for Reuse in Hide Tanning Processes," *Membranes (Basel)*, vol. 13, no. 1, p. 18, Dec. 2022, doi: 10.3390/membranes13010018.
- [3] D. S. Stefan, M. Bosomoiu, R. R. Constantinescu, and M. Ignat, "Composite polymers from leather waste to produce smart fertilizers," *Polymers*, vol. 13, no. 24. MDPI, Dec. 01, 2021. doi: 10.3390/polym13244351.
- [4] FAO, World statistical compendium for raw hides and skins, leather and leather footwear Intergovernmental Group on Meat and Dairy Products Sub-group on Hides and Skins A Subsidiary Body of the FAO Committee on Commodity Problems (CCP). 1999. [Online]. Available: www.fao.org/publications
- [5] P. Thanikaivelan, J. R. Rao, B. U. Nair, and T. Ramasami, "Zero Discharge Tanning: A Shift from Chemical to Biocatalytic Leather Processing," *Environ Sci Technol*, vol. 36, no. 19, pp. 4187–4194, Oct. 2002, doi: 10.1021/es025618i.
- [6] S. R. Thankaswamy, S. Sundaramoorthy, S. Palanivel, and K. N. Ramudu, "Improved microbial degradation of animal hair waste from leather industry using *Brevibacterium luteolum* (MTCC 5982)," *J Clean Prod*, vol. 189, pp. 701–708, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.jclepro.2018.04.095.
- [7] Z. Fang, Y.-C. Yong, J. Zhang, G. Du, and J. Chen, "Keratinolytic protease: a green biocatalyst for leather industry," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 101, no. 21, pp. 7771–7779, Nov. 2017, doi: 10.1007/s00253-017-8484-1.
- [8] S. G. Bodde, M. A. Meyers, and J. McKittrick, "Correlation of the mechanical and structural properties of cortical rachis keratin of retrices of the Toco Toucan (*Ramphastos toco*)," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 4, no. 5, pp. 723–732, Jul. 2011, doi: 10.1016/j.jmbbm.2011.01.010.
- [9] R. Gupta and P. Ramnani, "Microbial keratinases and their prospective applications: an overview," *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 70, no. 1, pp. 21–33, Mar. 2006, doi: 10.1007/s00253-005-0239-8.
- [10] P. L. Pedersen, "Biochemistry, 2nd edit., edited by Donald Voet and Judith G. Voet. New York: Wiley, 1995, 1392 pages, \$86.95," *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, vol. 23, no. 4, pp. 613–613, Dec. 1995, doi: 10.1002/prot.340230421.

- [11] Z. K. Bagewadi, S. I. Mulla, and H. Z. Ninnekar, "Response surface methodology based optimization of keratinase production from *Trichoderma harzianum* isolate HZN12 using chicken feather waste and its application in dehairing of hide," *J Environ Chem Eng*, vol. 6, no. 4, pp. 4828–4839, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.jece.2018.07.007.
- [12] A. Gegeckas, A. Šimkutė, R. Gudiukaitė, and D. J. Čitavičius, "Characterization and application of keratinolytic paptidases from *Bacillus* spp.," *Int J Biol Macromol*, vol. 113, pp. 1206–1213, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.046.
- [13] B. Srivastava, M. Khatri, G. Singh, and S. K. Arya, "Microbial keratinases: An overview of biochemical characterization and its eco-friendly approach for industrial applications," *J Clean Prod*, vol. 252, p. 119847, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.119847.
- [14] S. E. Tork, Y. E. Shahein, A. E. El-Hakim, A. M. Abdel-Aty, and M. M. Aly, "Purification and partial characterization of serine-metallokeratinase from a newly isolated *Bacillus pumilus* NRC21," *Int J Biol Macromol*, vol. 86, pp. 189–196, May 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.060.
- [15] S. Hamiche et al., "Purification and biochemical characterization of two keratinases from *Bacillus amyloliquefaciens* S13 isolated from marine brown alga *Zonaria tournefortii* with potential keratin-biodegradation and hide-unhairing activities," *Int J Biol Macromol*, vol. 122, pp. 758–769, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.174.
- [16] V. Hernández López, "EXTRACCIÓN DEL CROMO DE VIRUTAS DE CUERO PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA DEL CURTIDO MEDIANTE HIDRÓLISIS ALCALINA EN UN TAMBOR DE CURTIDO.," 2021.
- [17] J. Qiu, C. Wilkens, K. Barrett, and A. S. Meyer, "Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function," *Biotechnology Advances*, vol. 44. Elsevier Inc., Nov. 15, 2020. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107607.
- [18] W. Laba, A. Choinska, A. Rodziewicz, and M. Piegza, "Keratinolytic abilities of micrococcus luteus from poultry waste," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 46, no. 3, pp. 691–700, Jul. 2015, doi: 10.1590/S1517-838246320140098.
- [19] I. A. Cavello, R. A. Hours, and S. F. Cavalitto, " Bioprocessing of 'Hair Waste' by *Paecilomyces lilacinus* as a Source of a Bleach-Stable, Alkaline, and Thermostable Keratinase with Potential Application as a Laundry Detergent Additive: Characterization and Wash Performance Analysis ," *Biotechnol Res Int*, vol. 2012, pp. 1–12, Dec. 2012, doi: 10.1155/2012/369308.
- [20] J. L. Giongo, F. S. Lucas, F. Casarin, P. Heeb, and A. Brandelli, "Keratinolytic proteases of *Bacillus* species isolated from the Amazon basin showing remarkable de-hairing activity," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 23, no. 3, pp. 375–382, Feb. 2007, doi: 10.1007/s11274-006-9234-1.

EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE IMBIBICIÓN SOBRE PROPIEDADES FÍSICAS DE LAS SEMILLAS DE LENTEJA (*Lens culinaris*)

Yuliza G. Morales Herrejón¹, Consuelo de Jesús Cortés Penagos², Berenice Yahuaca Juárez².

Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas¹, Laboratorio de Biotecnología “M.C. Víctor M. Rodríguez Alcocer” de la Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tzintzuntzan 173, Matamoros, 58280 Morelia Michoacán²

1207834h@umich.mx

RESUMEN

México es un productor importante de lenteja (*Lens culinaris*), el estado de Michoacán es el principal productor con 93% de la producción nacional. La lenteja es de considerable valor nutritivo, su contenido en proteína es alto (25-35 %) con respecto a otras legumbres, contiene además fibra dietaria, vitaminas, minerales, compuestos bioactivos y presenta un bajo contenido de lípidos. La composición de la lenteja puede cambiar con respecto a la variedad. Es importante mencionar que si bien la calidad nutricional de la lenteja es relevante, también contiene compuestos tales como inhibidores de proteasas, taninos, ácido fítico, galactósidos, estos compuestos interfieren en la digestibilidad proteica y baja biodisponibilidad de minerales y vitaminas, por lo que son considerados anti-nutritivos. Las lentejas generalmente son consumidas como menestras a través de un proceso de cocción por ebullición, el cual modifica su composición nutrimental y propiedades tecno-funcionales, comprendidas como las propiedades no nutrimentales que afectan principalmente la textura de una matriz alimentaria. Otro de los procedimientos de transformación de la legumbre es el remojo o imbibición que antecede a la cocción, estudios sugieren que la imbibición mejora las propiedades nutricionales, promueve la eliminación o reducción de componentes anti-nutritivos y mejora sus propiedades tecno-funcionales. Durante la imbibición hay un ingreso del agua del medio de remojo al interior de la semillas permitiendo que la semilla se hidrate, esto puede observarse como un incremento en el tamaño y peso de la lenteja, estos cambios a su vez se relacionan con cambios químicos en los componentes nutricios de la legumbre, entre ellos destaca la hidratación de los gránulos del almidón, además de promover la eliminación o reducción de compuestos anti-nutritivos, así también, puede influir en la mejora de las propiedades tecno-funcionales, principalmente aquellas que están relacionadas con la interacción agua/proteínas y almidón, interviniendo en la textura de los alimentos derivados de la legumbre. El objetivo fue determinar el efecto de las condiciones de imbibición sobre las características físicas tamaño y peso de la lenteja (*Lens culinaris*). El material de estudio fue lenteja verde (*Lens culinaris*). Las lentejas se llevaron a imbibición a 50 °C y 20°C por 1, 2, 3 y 4 horas, las variables de respuesta estudiadas fueron tamaño (cm) y peso (gr) de la lenteja. En los resultados, de acuerdo con los tratamientos realizados, se observó el mayor tamaño y peso en la semilla de lenteja imbibida a 50 °C en comparación a la imbibida a 20°C. Con respecto al tiempo de mayor actividad, fueron las dos primeras horas de imbibición donde se presentó la mayor absorción de agua en la lenteja, a las 3 y 4 horas no se apreció un mayor crecimiento, permaneciendo constante el tamaño y peso de la legumbre. Por lo anterior, se concluye que la temperatura es el principal factor que influye en el tiempo de hidratación de la lenteja obteniéndose el mayor tamaño y peso a las dos horas de imbibición a 50°C. Esto puede estar relacionado con factores nutricionales, anti-nutricionales y tecno-funcionales.

Palabras clave: (Imbibición, Propiedades tecno-funcionales, Compuestos anti-nutricionales).

INTRODUCCIÓN

Las lentejas representan un impacto benéfico en la salud humana, disminuyen el riesgo de desnutrición y de enfermedades crónico-degenerativas, además su consumo es primordial en la población, especialmente por ser un recurso económico, soberano y sostenible. En México, esta legumbre ha recobrado importancia por su fácil cultivo, adquisición y calidad nutricional (alto contenido de proteína biodisponible, carbohidratos digeribles e indigeribles, fibra dietaria, minerales, vitaminas, compuestos bioactivos como polifenoles y antocianinas, además de reunir las características suficientes para ser participe en el combate de la desnutrición particularmente a través del aporte proteico que proporciona. Su cultivo radica principalmente en los estados de Michoacán (90 %) y Guanajuato (10 %), donde en los últimos años se ha incrementado significativamente la superficie dedicada a este cultivo (SIAP, 2020).

Es importante mencionar que las legumbres si bien contienen una serie de compuestos de alto valor nutritivo también incluyen un conjunto de compuestos que influyen negativamente en su valor nutricional, estos se conocen como componentes anti-nutritivos, destacando los inhibidores de proteasas, las lectinas, los α -glucósidos, fitatos y taninos condensados. Estos compuestos afectan la disponibilidad de nutrientes y su digestibilidad en el organismo humano, provocando distensión abdominal y flatulencias, siendo estas últimas las principales razones por las que los consumidores han dejado de incorporarlas en su dieta. No obstante, sus efectos anti-nutricionales, muchos de estos compuestos a su vez representan un papel importante como compuestos bioactivos, por lo que pueden estar relacionados con el aporte de actividad antioxidante (Marbelly, et al., 2003).

Existen diversos métodos que promueven la eliminación o reducción de compuestos anti-nutritivos, los cuales se basan en las propiedades fisicoquímicas de los compuestos para ser inhibidos, disminuidos o eliminados, por ejemplo los taninos, el ácido fítico y los oligosacáridos, tienen la propiedad de ser solubles en agua, esta hidratación puede ir acompañada de sustancias salinas (NaCl o Ca(OH)_2) permitiendo disminuir aún más estos factores anti-nutricionales debido al potencial iónico de la solución, incrementa además la permeabilidad de la cascarilla y los compuestos que son hidrosolubles y que pueden escindirse en medios alcalinos, lixivian de la semilla. En el caso de los inhibidores de proteasas se caracterizan por ser termolábiles y su actividad inhibitoria puede disminuir considerablemente con tratamientos térmicos (Sandra.,C, et al 2009). Entre los métodos más comunes destaca la aplicación de tratamientos térmicos, germinación, fermentación o remojo (imbibición). Este último, es utilizado como parte de un tratamiento común para la eliminación de compuestos anti-nutricionales dada su solubilidad en el agua de remojo. La imbibición además de tener un papel fundamental en la disminución de componentes anti-nutricionales, promueve cambios estructurales en las semillas debido a la difusión de agua en las diferentes estructuras anatómicas y componentes de estas. Las modificaciones derivadas de la imbibición promueven cambios en las propiedades fisicoquímicas, además, estudios demuestran que acompañar la imbibición con una temperatura mayor en el agua de remojo podría mejorar las propiedades texturales y la digestibilidad, así como las propiedades tecno-funcionales de la harina de lenteja (Ovando-Martínez, Whitney y Reush, 2013). El término de propiedades tecno-funcionales hace referencia a las propiedades fisicoquímicas que proporcionan información sobre cómo un componente en particular (proteína, carbohidratos) podría comportarse en una matriz alimentaria. Entre las propiedades tecno-funcionales destacan aquellas que están relacionadas con el agua y son la capacidad de absorción de agua y la capacidad de retención de agua, por otro parte la capacidad de retención de aceite es otra propiedad tecno-funcional importante. Dichas propiedades influyen en la textura de productos elaborados con harinas y puede influir en la procedente de legumbres. La imbibición es una práctica que consiste en la inmersión de las semillas de lenteja en cantidades determinadas de agua durante cierto periodo de tiempo, conforme el tiempo de imbibición transcurre, la lenteja se hidrata al haber un ingreso del agua del medio de remojo al interior de la semilla, provocando un incremento en el tamaño y peso de la lenteja. La velocidad de hidratación está directamente relacionada con el tipo de

semilla y la temperatura del agua de remojo, así las temperaturas para el remojo reportadas en la literatura están comprendidas desde 20 °C a 50 °C, la temperatura mayormente reportada corresponde a 50 °C reportándose cambios estructurales en los componentes de la semilla, permitiendo que la difusión del agua sea más rápida y que el mayor número de semillas alcance rápidamente el mismo nivel de humedad. De tal forma que, a mayor velocidad de hidratación el tamaño y peso de la semilla de lenteja será mayor en un tiempo relativamente corto. Estos parámetros a su vez pueden relacionarse con cambios químicos en los componentes de las legumbres, durante la imbibición la semilla se expone a una alta humedad y temperatura induciendo cambios estructurales debido a la difusión de agua en los componentes de la semilla, entre ellos destaca la gelatinización del almidón como componente principal mayoritario, en el almidón se producirá un débil fortalecimiento de los enlaces entre la amilosa y la amilopectina o entre las moléculas de amilopectina, promoviendo cambios importantes en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la semillas, además de promover la eliminación o reducción de compuestos anti-nutricionales mejorando la digestibilidad (Galaz-Pérez, et al ., 2020).

Objetivo

El objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el efecto de la imbibición sobre el tamaño y peso de la semilla de lenteja (*Lens culinaris*).

Materiales y métodos

Material de estudio. Semillas de lenteja (*Lens culinaris*) adquiridos en un mercado local de Morelia, Michoacán. Fueron trasladadas al Laboratorio de Biotecnología “M.C. Víctor Manuel Rodríguez Alcocer” de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH para su procesamiento y análisis.

Tratamiento de imbibición. Las lentejas se llevaron a imbibición en 400 ml de agua destilada a 20 °C y 50 °C por 5 tiempos de remojo (0,1, 2, 3 y 4 horas).

Variables de respuesta. Teniendo un tamaño de muestra inicial de 125 gr, se evaluó el tamaño de las lentejas (cm) durante cada uno de los tiempos de remojo, se utilizó un vernier para la medición. Se evaluó también el peso de las lentejas (gr) después de cada remojo con el tiempo correspondiente de imbibición. Posteriormente se eliminó el agua de remojo, al mismo tiempo las semillas de lenteja se retiraron y pesaron en una balanza granataria para determinar el agua absorbida que tuvieron las semillas de lenteja en relación a cada tiempo de remojo. Una vez imbibidas las lentejas durante el tiempo correspondiente, se midió el crecimiento que tuvieron las mismas.

Análisis estadístico. El diseño experimental fue completamente al azar con 3 repeticiones. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico JMP 11, se aplicó una análisis de varianza (ANOVA), y se aplicó la prueba de Fisher para determinar las diferencias entre medias ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

En las figuras 1 y 2 se presentan los resultados correspondientes a la determinación del tamaño y peso de las semillas de lenteja imbibidas a 20 °C. La imbibición a 20 °C indujo un crecimiento de las lentejas de 3 cm a 4.5 cm en la primera hora de remojo, registrándose el mayor tamaño a las dos horas de imbibición al pasar de 4.5 cm a 5.0 cm, finalmente para las 3 y 4 hrs ya no se observó un incremento considerable, permaneciendo en una medida de 5.1 cm. Con respecto a la variable peso se observó que a las primeras horas (1 y 2) se determinó el mayor peso de agua absorbida para las semillas de lenteja, iniciando con un peso de 125 gr, el cual aumentó a 180 gr y 200 gr, siendo proporcional al comportamiento observado para la variable tamaño de la lenteja. Finalmente con respecto a las 3 y 4

horas de imbibición se registró un incremento del peso, sin embargo su valor es menor al obtenido en las primeras horas de imbibición (201.0 gr y 206.0 gr). Cabe resaltar que a diferencia del tamaño, en donde en las dos últimas horas de imbibición ya no hay crecimiento de la semilla, en la variable peso, si se observa un aumento en dicho parámetro.

Figura 1. Cinética de imbibición a 20 °C en relación al crecimiento de la lenteja después del remojo

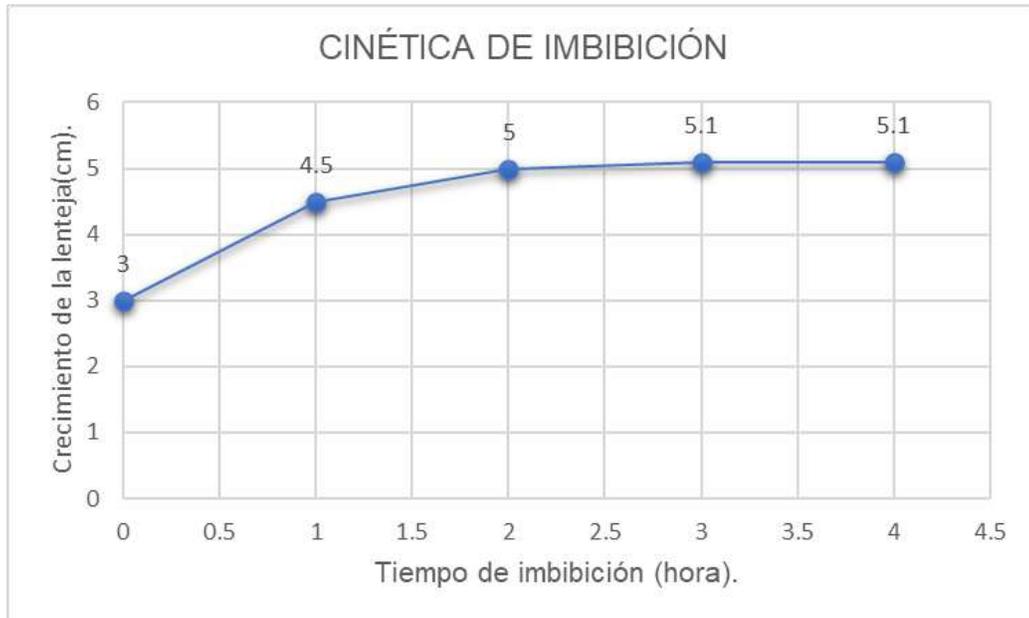


Figura 2. Cinética de imbibición a 20 °C en relación al peso de la lenteja después del remojo



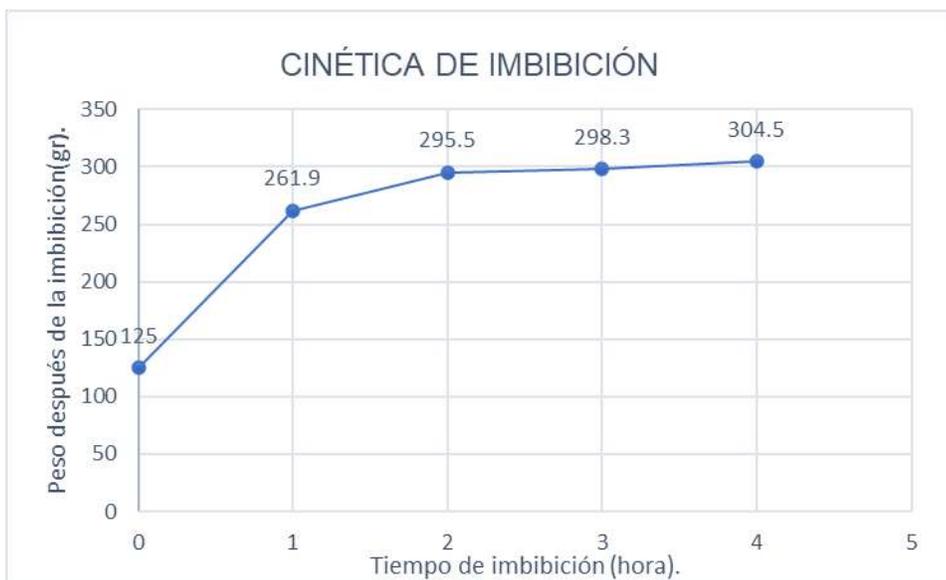
La ganancia de peso y tamaño de las semillas de lenteja imbibidas a una temperatura de 50 °C se presenta en las figuras 3 y 4. En relación al tamaño de la lenteja (Figura 3), se observó que al tiempo 1 de imbibición (1 hr) el tamaño incrementó de 3 cm a 6.5 cm, alcanzando su máximo crecimiento a las dos horas de imbibición (7 cm), posteriormente a las 3 y 4 horas, no hubo un incremento significativo en el tamaño de la lenteja, permaneciendo en un valor constante al término del remojo (7.1 cm). Con respecto a la variable peso (Figura 4), mostró un comportamiento similar al tamaño de la lenteja, siendo directamente proporcional una con respecto a otra en las dos primeras horas, donde se registró el mayor peso de agua absorbida para las semillas de lenteja, partiendo del tiempo cero con un peso de 125 gr, al tiempo 1, de 261.9 gr y al tiempo 2, de 295.5 gr. Para los tiempos 3 y 4 de imbibición, hubo aún un incremento de peso, alcanzando su máximo al tiempo 4 (298.3 gr y 304.5 gr respectivamente) a diferencia de la variable tamaño de la lenteja, donde en los tiempos 3 y 4 de imbibición el tamaño ya no fue modificado.

Figura 3. Cinética de imbibición a 50°C en relación al crecimiento de la lenteja después del remojo.



Con la absorción de agua en la lenteja se favorece la atracción entre las moléculas de amilosa, formando una red entre sí, que atrapa el agua y los gránulos de almidón comienzan a crecer denotándose en un incremento en el tamaño de la semilla, esto puede promover cambios en las propiedades funcionales de la lenteja. La ganancia de peso y tamaño en las semillas de lenteja durante la imbibición se le atribuye a los gránulos de almidón, el agua de remojo y la temperatura que promueve cambios estructurales debido a la difusión del agua. Durante el remojo las paredes celulares de la cascarilla se ablandan y debilitan permitiendo así la entrada del agua en la semilla, como resultado el almidón de la semilla comienza a ablandarse y los gránulos de almidón se hinchan porque absorben y retienen el agua. Por otro lado, esto también se relaciona con la disminución de compuestos anti-nutricionales, ya que el remojo no solo hidrata a las semillas de lenteja, sino que también favorece su digestibilidad al eliminar factores anti-nutricionales, principalmente los solubles en el agua de remojo (taninos, ácido fítico, oligosacáridos).

Figura 4. Cinética de imbibición a 50°C en relación al peso de la lenteja después del remojo.



Cabe señalar que el remojo además se relaciona con las propiedades tecno-funcionales, ya que estas depende de los gránulos de almidón y de la interacción proteína-agua, los cuales inicialmente están unidos por puentes de hidrógeno en forma de micelas; cuando estos gránulos de almidón tienen contacto con el agua más el acompañamiento de un tratamiento térmico, estas estructuras se hidratan y provocarán cambios en las propiedades de hidratación tales como la absorción de agua, retención de agua, solubilidad y viscosidad.

Considerando lo anteriormente expuesto, es importante destacar que la temperatura del agua de imbibición influye en la ganancia de peso y tamaño de las lentejas. Las semillas imbibidas a 20°C al tiempo 1 (1hr) tuvieron un incremento de tamaño de 1.5 cm en tanto que las lentejas imbibidas a 50°C incrementaron su tamaño en 3.5 cm. Ocurriendo un comportamiento similar en la variable peso, en la primera hora de remojo a 20°C hubo una ganancia de 55 gr, mientras a 50°C a 1hr de remojo hubo una ganancia de peso de 136.9 gr. Comparativamente, la imbibición a 50 °C permite una mayor absorción de agua a un menor tiempo en comparación con el remojo a 20 °C. Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Braganca, G, et al, (2020) donde atribuyen a la temperatura cambios en el tamaño y peso de las semillas, ya que al calentar el almidón en presencia de agua, los gránulos de almidón se hidratan y modifican su estructura observando ganancias de peso y tamaño de la legumbre. Otros estudios relacionados a tratamientos de remojo indican que la imbibición favorece la capacidad de absorción de agua y poder de hinchamiento en los gránulos de almidón (Luis, C, at al)

CONCLUSIÓN

En función de los resultados obtenidos, se concluye que las lentejas imbibidas a 50 °C presentaron una mayor hidratación a un menor tiempo con respecto a 20 °C. La temperatura inicial de imbibición repercute en el tiempo de absorción de

agua en la lenteja, representado por el tamaño y peso de la legumbre. Estas variables pueden presentar una relación directa con la disminución de compuestos anti-nutricionales y con las propiedades tecnofuncionales.

REFERENCIAS

- 1.Napa, S., Imran, A., & Thanakorn, D. (2013). Comparative analysis of antioxidant and antimelanogenesis properties of three local guava (*Psidium guajava* L) varieties of Thailand, via different extraction solvents. *Food Measure*, 207-214.
- 2.Fernández-Orozco, R., Zielinski, H., & Piskula, M. (2003). Contribution of low-molecular-weight antioxidants to the antioxidants capacity of raw and processed lentil seeds. *Die Nahrung*, 291-299.
- 3.SIAP. (07 de Octubre de 2020). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola*. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>.
- 4.Galaz-Pérez EA, Velazquez G, Mendez-Montealvo G. Improvement of physicochemical properties of baked oatmeal (*Avena sativa* L.) by imbibition. *Cereal Chem*. 2020;97:981–990. <https://doi.org/10.1002/cche.10320>

ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL SUELO DE CULTIVO POR EL USO DE ACOLCHADOS

Sonia de la Luz Frías Torres¹, Eladio Delgadillo Ruiz¹, Lucía Delgadillo Ruiz², Guadalupe Vázquez Rodríguez¹, David Tirado Torres¹, Luz Adriana Arias Hernández¹ y María Maldonado Santoyo³

¹Universidad de Guanajuato, ²Universidad Autónoma de Zacatecas. ³Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas.
sdll.friastorres@ugto.mx

RESUMEN

La aplicación de acolchados ha sido gestionada como elementos que mejoren la producción de los cultivos agrícolas. La variedad componentes de los acolchados comprende principalmente de tipo orgánico e inorgánico, los cuales presentan efectos positivos en los cultivos, que van desde la mejora en el rendimiento de cultivos, la retención de agua en suelo entre otros. Aunado a ello se experimentan cambios a nivel de contenido y propiedades del suelo, entre los que se pueden mencionar la variación de humedad, pH, Conductividad Eléctrica (CE) y composición iónica. En este proyecto de investigación se analizó la variación de la conductividad eléctrica, pH, Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) y % de Materia Orgánica (MO) en suelo, para cultivos de frijol con tratamientos de acolchados con bagazo de maguey, paja de avena, plástico y un control sin acolchado. Se obtuvieron valores de pH comprendidos en un rango de 7.61 a 8.01, siendo mayor el pH en el acolchado plástico (8.01). Al comparar la conductividad se observaron valores menores en cada uno de los tratamientos empleados con respecto al valor del control (1.58 dSm⁻¹). Los valores de CIC de los tratamientos fueron 97.8, 95.5, 93.05 y 92.9 (mol (Cmol+)/kg), para el proceso sin acolchado, paja de avena, bagazo de maguey y acolchado plástico, respectivamente, lo anterior muestra una mayor capacidad de intercambio en los tratamientos de acolchado plástico y bagazo de maguey los cuales presentan los más altos valores de MO (1.76 y 1.6 %, respectivamente) en comparación con el % de MO del control (0.66). Los valores de peso total de muestra de cultivo son mayores para los tratamientos de acolchado plástico (2.97 Kg) y bagazo de maguey (2.57 kg), en comparación con los obtenidos en los tratamientos de control sin acolchar (0.51 Kg). Como conclusiones se determina que no se observan variaciones significativas en los valores de pH y CE en los diversos tratamientos. El uso de acolchados favoreció las condiciones del suelo observando mejores condiciones de CIC así como porcentaje de MO en los tratamientos de bagazo de maguey y acolchado plástico lo cual se vio reflejado en los rendimientos de cultivo.

INTRODUCCIÓN

Las características del suelo varían en función del tipo de cultivo, de la zona de estudio, condiciones climáticas, factores externos los cuales pueden generar variaciones en sus características físicas y químicas del suelo, las cuales aportan elementos importantes respecto al crecimiento o rendimiento de los cultivos. Se ha reportado que el uso de acolchados tiene efectos positivos en la composición del suelo y en el rendimiento de cultivos. Los acolchados empleados pueden variar en su composición, ya que pueden estar formados de materiales de origen orgánico e inorgánico. En el caso de tipo orgánico puede distinguirse desde paja de arroz, hasta residuos de bagazo de caña y maguey, del cual este último se ha empleado para este proyecto, perteneciente a la familia botánica agavácea y es de gran importancia por ser materia prima y fuente de gran variedad de productos (Iñiguez et al, 2014), además se consideró paja de avena como acolchado. Dichos residuos pueden ser aprovechados para colocarlos sobre el suelo y mejorar el consumo de agua y la producción

agrícola de la región semidesértica (Martínez, 2005). La recuperación y aprovechamiento del bagazo de maguey tiene gran importancia respecto a su uso potencial, ya que han sido caracterizados presentando propiedades como fuente de alimento para rumiantes. (Delgadillo et al 2015). Si bien existen diversos tipos de acolchado los de origen vegetal, éstos presentan ventajas respecto a los de tipo sintético, referente a lo anterior se ha reportado que los de tipo vegetal presentan ventajas respecto a la conservación de humedad en suelo, así como conductividad y pH. En el caso de pH se ha reportado que los acolchados generan amortiguamiento en su valor permitiendo mayor movilidad de iones como Ca y Mg (Debnath et al). Se puede mencionar además de lo anterior, que el uso de bagazo como acolchado beneficia el potencial de crecimiento de los cultivos. Iqbal et al (2020), realizaron el análisis de diversos tipos de acolchados en relación a los ofrecen el rendimiento agrícola mediante el cual mencionan que este rendimiento puede variar desde un 4 a un 47%. Este proyecto de investigación se ha enfocado en acolchado plástico sintético negro, en el caso del acolchado orgánico se tiene interés especial en acolchado con maguey empleando los tratamiento los cultivo de frijol.

TEORÍA

El uso de acolchados en agricultura aporta beneficios al suelo de cultivo mediante los cuales se tienen rendimientos eficientes.

PARTE EXPERIMENTAL

A continuación se describe la metodología llevada a cabo en el desarrollo de esta investigación.

1. Determinación de pH mediante extractos de agua con una relación peso/volumen 1:5
2. Análisis del Carbono orgánico total (COT).
3. Determinación de Minerales y cationes intercambiables mediante espectroscopía de absorción atómica.
4. Determinación de materia orgánica (MO) mediante muestras tomadas de forma aleatoria a 0.2 m.

RESULTADOS

Resultados de pH y conductividad

En la figura 1 se muestran los resultados de los valores de pH y conductividad. Como puede observarse, los valores de conductividad permanecen constantes en un rango de 1.5 a 2 dS/m para cada uno de los tratamientos aplicados. Se ha reportado que para estos valores el suelo se describe como bajo en sales, siendo estas condiciones favorables en los cultivos. Respecto a los valores obtenidos en el pH permanecen en un rango entre 7.8 y 8, Sarmento et al, reportan valores de pH de 7.1 con tratamiento plástico y valores de conductividad de 1.2 dS/m con el tratamiento mencionado. Es importante mencionar que los diseños experimentales se llevaron a cabo considerando riego de temporal para todos los tratamientos a diferencia resultados con mayor variación del valor de pH (Yang et al, 2020) con alguna técnica de riego, se ha reportado además que estos valores son los adecuados para un buen rendimiento. En la misma tabla se observan los valores respecto al peso obtenido del cultivo, en donde se observa que los mejores rendimientos son atribuidos a los tratamientos de bagazo de maguey y acolchado plástico.

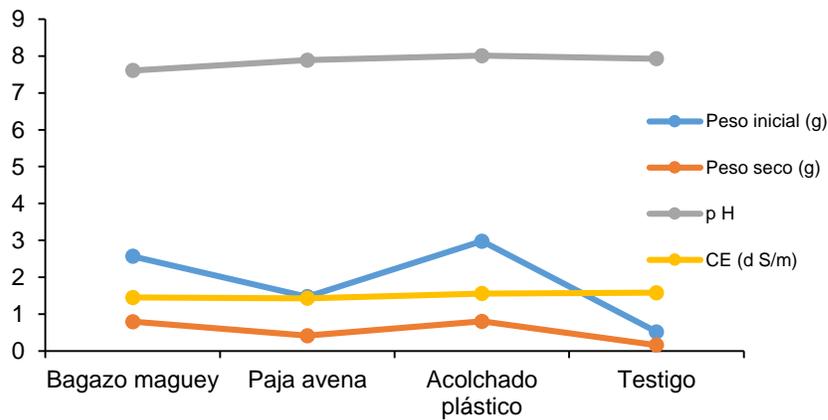


Figura 1. Valores de pH, conductividad y peso inicial y seco del cultivo

Resultados de MO y CIC

En la figura 2 se muestran los resultados de los valores de MO (%) así como de CIC (Cmol(+)/kg). Los valores mayores se obtuvieron para acolchado plástico y bagazo de maguey en comparación con la prueba testigo en la que no se aplicó acolchado. Se presentan además los valores referentes a la capacidad de intercambio catiónico observando valores ligeramente más bajos para los tratamientos de bagazo de maguey y acolchado plástico, indicando con ello mayor disponibilidad catiónica en estos tratamientos en comparación con el acolchado con paja de avena y la prueba testigo. Sharma et al mencionan entre los beneficios del uso de acolchados la biodisponibilidad de micronutrientes.

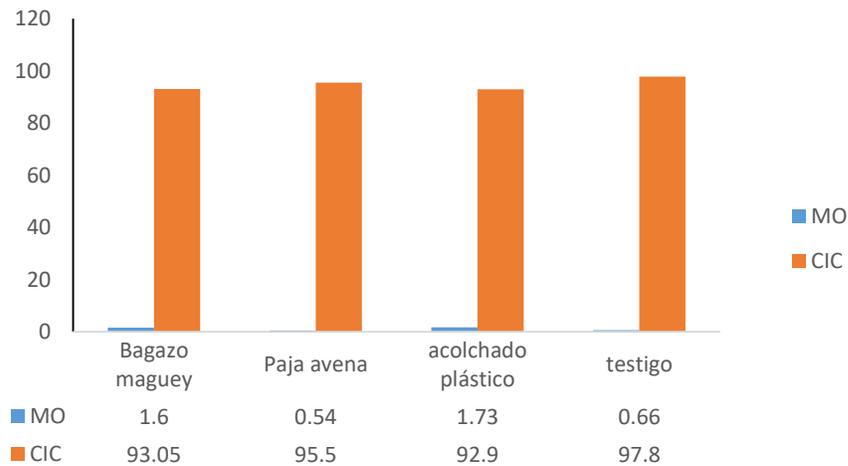


Figura 2. Valores de porcentajes de Materia Orgánica (MO) y capacidad de intercambio catiónico (CIC)

En la tabla 1 se muestran valores de fósforo, capacidad de campo (%) y punto de marchitez (%), observando valores muy parecidos para la capacidad de campo para los tratamientos de bagazo de maguey y acolchado plástico (42.13 y 42.4, respectivamente). En el caso de fósforo aprovechable se resalta el valor obtenido para el acolchado plástico.

Tabla 1. Valores obtenidos de fósforo, capacidad de campo y punto de marchitez

Tratamiento	Capacidad de campo	Punto de marchitez	Fósforo aprovechable
Bagazo de maguey	42.13	22.9	62.10
Paja de avena	45.92	24.96	14.35
Acolchado plástico	42.40	23.04	107.49
Testigo	40.77	22.16	6.46

CONCLUSIONES

No se presenta variación significativa en los valores de pH y conductividad en los diversos tratamientos. Por otro lado, el uso de acolchados favoreció las condiciones del suelo respecto al CIC y MO en los tratamientos de bagazo de maguey y acolchado plástico, así como en los rendimientos de cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. G. Iñiguez, C. J. J. Bernal, M.W. Ramírez, N. J. Villalvazo. "Recycling Agave Bagasse of the tequila industry. *Advances in Chemical Engineering and Science*. Vol 4, 2014, pp 135 – 142.
2. M. Martínez-Salvador, R. Valdez-Cepeda, H. R. Arias, L. F. Beltrán-Morales, B. Murillo-Amador, E. Troyo-Diéguez, & A. Ortega-Rubio. "Distribution and density of maguey plants in the arid Zacatecas Plateau, Mexico". *Journal of Arid Environments*, 2005, Vol 61(4), pp 525-534.
3. L. Delgadillo Ruíz, R. Bañuelos Valenzuela, E. L. Esparza Ibarra, H. Gutiérrez Bañuelos, F. J. Cabral Arellano, & A. Muro Reyes. Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2015, 6(SPE11), pp 2099-2103.
4. SK, P. G. P., Debnath, S., & S. Maitra, "Mulching: Materials, advantages and crop production". *Protected Cultivation and Smart Agriculture*; Maitra, S., Gaikwad, DJ, Tanmoy, S., Eds, Capítulo 4, 2020, pp 55-66.
5. Iqbal R, Sammar-Raza MA, Valipour M., Farrukh Sallem M. Saqlanin Zaheer M, Ahmad S, Toleikiene M, Haider I, Usman- Aslam M, Adnan-Nazar M. "Potencial agricultural and environmental benefits of mulches-a review". *Bulletin of the National Research Centre*. 2020, Vol 44(75) pp 2-16.
6. G. Yang, Li, F. Tian, L., He, X. Gao, Y. Wang, Z., & Ren, F. "Soil physicochemical properties and cotton (*Gossypium hirsutum* L.) yield under brackish water mulched drip irrigation". *Soil and Tillage Research*, 2020, Vol 199, pp 104592.
7. G. Sarmiento-Sarmiento, W. Rivera-Bejarano, L. Mena-Chacón, R. Quispe-Castro, L. Velarde-Apaza, & L. Lipa-Mamani. "Efecto del uso de vermicompost, acolchado orgánico y

cobertura plástica sobre algunas propiedades del suelo y el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* L.) en Perú”. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 2023, Vol. 39(1), pp 35-44.

5. S. Dong, S. Wan, Y. Kang, J. Miao, & X. Li. “Different mulching materials influence the reclamation of saline soil and growth of the *Lycium barbarum* L. under drip-irrigation in saline wasteland in northwest China”. *Agricultural Water Management*, 2021, 247, pp 106730.
6. R. Sharma, S. Bhardwaj. “Effect of mulching on soil and water conservation-A review” *Agricultural Reviews*, 2017, Vol. 38, no 4, pp 311-315.

ALGODÓN: COMPARACIÓN DE LA SOLIDEZ DEL COLOR DEL TEÑIDO CON GRANA COCHINILLA CONTRA EL COLORANTE SINTÉTICO

Gabriela Arroyo Figueroa, Jorge G Dzul Cauich, Tarsicio Medina Saavedra, María Guadalupe Espinoza Castro, Antonio de Jesús Ramírez Arroyo

Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra.

g.arroyo@ugto.mx.

RESUMEN

En tiempos actuales debido a la contaminación del medio ambiente se busca disminuir la contaminación de los efluentes textiles, sustituyendo componentes sintéticos por naturales, como es el caso de los colorantes, pero a su vez se buscan tener productos finales con la calidad deseada. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue comparar la solidez del color del teñido de la fibra de algodón con el extracto hidrosoluble de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), contra el obtenido en la misma fibra teñida con colorantes sintéticos. La metodología consistió en realizar el teñido de la fibra de algodón con el extracto hidrosoluble de la grana cochinilla, aplicando dos tratamientos Mordentado con: bicarbonato y alumbre, cada uno con tres replicas. Posteriormente analizar el color mediante un colorímetro usando las coordenadas CIELab*. Para consecutivamente realizar las pruebas de solidez de color (pH, frote en seco, alta temperatura, lavado con jabón, y luz artificial), y finalmente comparar con las mismas pruebas aplicadas a la fibra teñida de algodón con colorante sintético, por medio de un análisis estadístico (ANOVA simple) en el programa Statgraphics plus 5, cotejando el parámetro de ΔE de cada tratamiento (Mordentado con: bicarbonato y alumbre) con el obtenido para el colorante sintético. Para los resultados en la prueba de solidez al pH 5.0, pH 9, lavado con jabón y luz artificial, se presentó el mismo comportamiento existiendo diferencia significativa entre los tratamientos y el colorante sintético, teniendo este último un menor promedio (2.55 ± 0.13 , 2.62 ± 0.34 , 0.42 ± 0.10 , 1.48 ± 0.56 , respectivamente) seguida del tratamiento con bicarbonato y posteriormente el del alumbre. Para la prueba de solidez del frote en seco de igual manera el colorante sintético presento un menor promedio (1.52 ± 0.11), pero en este caso fue seguida del alumbre y después el del bicarbonato. En el caso de la prueba de solidez a altas temperaturas se presentó el mayor promedio en el colorante sintético (45.12 ± 0.3), no habiendo diferencia significativa en los dos tratamientos. Por lo que se puede concluir que en el teñido de algodón con el extracto de la grana cochinilla es resistente a las altas temperaturas en comparación con el algodón teñido con colorante sintético. Estos resultados pueden resultar muy importantes en la práctica del teñido con el insecto y en control calidad de las prendas realizadas con esta fibra natural.

INTRODUCCIÓN

Debido a la contaminación del medio ambiente y de la demanda actual de los productos naturales como son los textiles, en el laboratorio de productos naturales de la sede mayorazgo, del campus Celaya-Salvatierra de la Universidad de Guanajuato, se ha venido trabajando con el teñido de fibras naturales con colorantes naturales. De Manera especial se ha investigado un insecto proveniente del nopal, conocido comúnmente como grana cochinilla de este se obtiene el ácido carmínico el cual se usa para dar color a las fibras naturales como es el caso del algodón. En esta investigación se obtuvo el extracto hidrosoluble del insecto seco y se procedió a teñir una fibra de algodón con dos tratamientos, usando dos mordentes y posteriormente se midió el color. Se realizaron pruebas de solidez del color y esta mismas fueron comparadas con las realizadas para la fibra de algodón teñida

con el colorante sintético. Para poder obtener productos resultantes del teñido de fibras naturales con colorantes naturales como la grana cochinilla, que puedan competir con los productos resultantes de fibras sintéticas o naturales teñidas con colorantes sintéticos, se precisa de pruebas de calidad, estas pruebas se conocen como pruebas de solidez al color, para verificar la resistencia del color. Evaluar la calidad del color de los productos textiles como en prendas, artículos de decoración o de uso en exteriores, son pruebas de mucha importancia, ya que estas definen la permanencia del color original en la fibra antes de que se dé una degradación.¹ Las pruebas de solidez al color que comúnmente se realizan son: solidez del color al pH ácidos y álcalis, solidez del color a temperaturas altas, solidez del color al lavado doméstico, solidez del color a la luz artificial y frote en seco.

TEORÍA

En la actualidad, el uso de colorantes naturales ha tenido un desarrollo notable en algunos sectores de la población, esto se debe a la necesidad de contribuir a la protección del ambiente, y de optar por productos menos dañinos para la salud¹. Estos colorantes se denominan también eco-tintes por ser respetuosos con la naturaleza y se los obtiene de varias fuentes naturales entre las que se cuentan los vegetales, animales y microorganismos². Se les llaman colorantes naturales a aquellas sustancias, extraídas de plantas, animales e insectos, que son aptas para la tintura de las fibras y cerámicas, también utilizadas como una herramienta de expresión artística y pioneras en el rubro textil.¹ Los colorantes, en especial los de origen sintético, presentes en las aguas residuales, son responsables de muchos de los efectos nocivos sobre la flora y la fauna acuática. Los más significativos son la disminución del oxígeno disuelto, la eutrofización, la formación de compuestos recalcitrantes y tóxicos para las células y la obstaculización del paso de la luz a los cuerpos de agua y su deterioro estético. Los colorantes sintéticos son compuestos químicos obtenidos por síntesis. De estos compuestos tienen como característica un doble enlace nitrógeno-nitrógeno ($N = N$). La generación de efluentes que contienen estos colorantes constituye uno de los mayores problemas de contaminación ya que durante el proceso de teñido de un 15—50% del colorante utilizado queda remanente y se vierte como agua residual sobre los cuerpos de agua, con la consiguiente interferencia en los procesos de la vida acuática, ya que impiden el paso de la luz y ocasionan deterioro estético.¹

Un colorante natural que puede ser usado para sustituir los colorantes sintéticos es el ácido carmínico el cual puede extraerse de hembras adultas del insecto *Dactylopius coccus* Costa (grana cochinilla), mismo que se hospeda en el nopal, y que puede ser usado en el teñido de fibras naturales como el algodón, se ha encontrado que presenta buena estabilidad sobre todo a la luz y que cambia de coloración dependiendo del pH de la solución, lo que es un atractivo para su aplicación en textiles³. La cochinilla es uno de los colorantes rojos orgánicos más conocidos, que se ha utilizado en objetos del patrimonio cultural (por ejemplo, textiles y pinturas) desde la antigüedad. Además, es un colorante alimentario natural (E120) y también se utiliza en la industria cosmética y farmacéutica. El material colorante se puede obtener de varios insectos escamosos de *Dactylopius* y *Porphyrophoragenus*. La mayoría de los estudios químicos se han centrado en la cochinilla mexicana (*Dactylopius coccus* Costa), la armenia (*Porphyro phora hameli*) y la polaca (*Porphyrophora polonica*), debido a que estas son las más frecuentemente descritas en los registros históricos y son las que se sugieren como cochinilla. fuentes en obras de arte de interés cultural.⁴ De la grana cochinilla mexicana se obtiene uno de los colores rojos más populares para tintes en textiles y también uno de los más utilizados en el patrimonio cultural dentro de las obras de arte (por ejemplo, en textiles y pinturas ancestrales) desde la civilización maya. A lo largo de los siglos, los nativos de México y Perú mejoraron el rendimiento del tinte por crianza selectiva, tanto de los cactus como de los insectos, lo que resultó en un producto que era significativamente superior al del viejo mundo.

Después de la conquista española de los aztecas Imperio (1521), la cochinilla se exportaba a Europa en grandes cantidades, convirtiéndose en uno de los productos más comercializados después del oro y la plata, reemplazando totalmente todos los tintes rojos para insectos en Europa. Hoy en día, los usos de los tintes naturales están volviendo, porque los tintes sintéticos son uno de los principales contaminantes ambientales en los últimos años.⁴

Por otro lado, se requiere de una buena estabilidad del colorante natural en las fibras, en este caso el extracto de la grana cochinilla, de manera que pueda ser comparado con los colorantes sintéticos usados ya en textiles. Una forma de evaluar esta estabilidad es mediante las pruebas de solidez al color. La solidez del color se puede entender como “una habilidad de la tela para retener el color durante su ciclo de vida”, hay muchos tipos de propiedades de solidez al color que deben ser considerados para proporcionar al consumidor un artículo aceptable, existen varias normas que se sigue en la industria textil, para determinar la solidez del color.⁵

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue comparar la solidez del color del teñido de la fibra de algodón con el extracto hidrosoluble de grana cochinilla (*Dactylopius coccus* Costa), contra el obtenido en la misma fibra teñida con colorantes sintéticos.

PARTE EXPERIMENTAL

La metodología consistió en teñir de la fibra de algodón con el extracto hidrosoluble de la grana cochinilla, aplicando dos tratamientos Mordentado con: bicarbonato y alumbre, cada uno con tres replicas, el teñido se llevó a cabo mediante el proceso de premordentado (mordentar antes de teñir), de acuerdo con la metodología seguida en Arroyo *et al.*, (2021)⁶. Posteriormente se analizó el color mediante un colorímetro usando las coordenadas CIELab* (L*, a* y b*). Para consecutivamente realizar las pruebas de solidez de color (pH, frote en seco, alta temperatura, lavado con jabón, y luz artificial) (Fig. 1), una vez realizadas las pruebas se analizó nuevamente el color con las mismas coordenada CIELab* (L*, a* y b*). Se calculó la diferencia de color, antes y después de llevar a cabo las pruebas de solidez (ΔL^* , Δa^* y Δb^*). Para obtener el valor de ΔE , a partir de la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados del delta de cada coordenada mediante la fórmula no.1.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})} [1]$$

Lo anterior aplicado también a la fibra de algodón teñida con colorante sintético. Para finalmente comparar los datos obtenidos por medio de un análisis estadístico (ANOVA simple). La variable dependiente estudiada fue ΔE parámetro que indica las diferencias entre las coordenadas obtenidas. Con los datos resultantes en el programa Excel, fue calculado el promedio de los cambios de cada coordenada y de ΔE , así como su desviación estándar. Seguidamente se comparó con el colorante sintético por medio de un análisis estadístico (ANOVA simple) en el programa Statgraphics plus 5.1., es decir se cotejó el parámetro de ΔE de cada repetición según el tratamiento empleando colorante natural con el ΔE resultante de cada repetición aplicando colorante sintético. Con los datos obtenidos se elaboró una tabla para cada una de las pruebas de solidez al color, se colocó en ellas el promedio y la desviación estándar de los valores obtenidos con la fórmula no. 1.

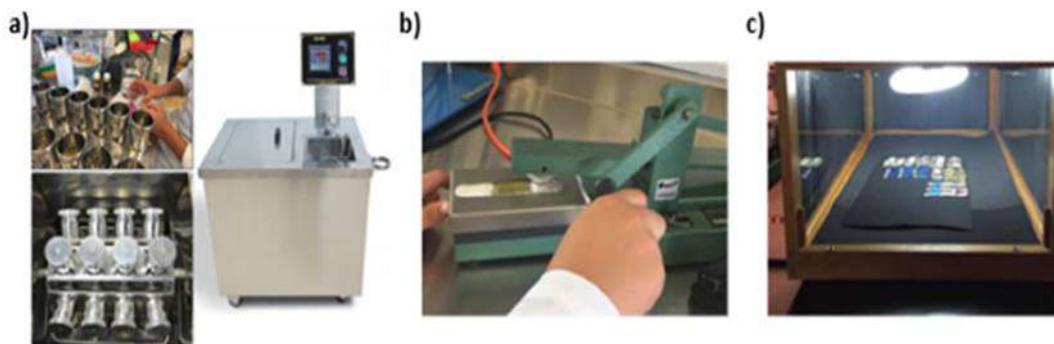


Figura no. 1. Equipo utilizado para realizar las pruebas de solidez: (a) Gester GT-D15, para las pruebas de solidez al pH, alta temperatura y lavado con jabón. (b) Frotimetro, para la prueba de solidez de frote en seco. (c) Cámara de luz artificial, para la prueba de solidez a la luz artificial.

RESULTADOS

En la tabla no. 1 se muestran los datos obtenidos de las diferentes pruebas de solidez del color del teñido de algodón con el extracto hidrosoluble de la grana cochinilla, usando dos diferentes mordientes o tratamientos (Bicarbonato y alumbre), comparado con el algodón teñido con el colorante sintético. Se puede observar que en la prueba de solidez al pH 5.0, pH 9, lavado con jabón y luz artificial, se presentó el mismo comportamiento existiendo diferencia significativa entre los tratamientos y el colorante sintético, teniendo este último un menor promedio (2.55±0.13, 2.62±0.34, 0.42±0.10, 1.48±0.56, respectivamente) seguida del tratamiento con bicarbonato y posteriormente el del alumbre. Para la prueba de solidez del frote en seco de igual manera el colorante sintético presento un menor promedio (1.52±0.11), pero en este caso fue seguida del alumbre y después el del bicarbonato. En el caso de la prueba de solidez a altas temperaturas se presentó el mayor promedio en el colorante sintético (45.12±0.3), no habiendo diferencia significativa en los dos tratamientos. Por lo que se puede concluir que en el teñido de algodón con el extracto de la grana cochinilla es resistente a las altas temperaturas en comparación con el algodón teñido con colorante sintético. Estos resultados pueden resultar muy importantes en la práctica del teñido con el insecto y en control calidad de las prendas realizadas con esta fibra natural.

Tabla 9: Valores del ΔE del algodón teñido con grana cochinilla contra el colorante sintético.

Prueba de solidez	ΔE		Colorante sintético
	Grana cochinilla Bicarbonato	Alumbre	
PH 5.0	17.07±2.62 ^a	22.04±0.8 ^b	2.55±0.13 ^c
PH 9.0	16.51±2.79 ^a	24.1±3.65 ^b	2.62±0.34 ^c
Frote en seco	31.96±3.83 ^a	19.43±1.90 ^b	1.52±0.11 ^c
Temperaturas altas	0.65±0.43 ^a	0.99±0.2 ^b	45.12±0.3 ^c
Lavado con jabón	2.57±1.76 ^a	1.45±0.96 ^b	0.42±0.10 ^c
Luz artificial	21.37±1.47 ^a	16.99±1.69 ^b	1.48±0.56 ^c

Letras iguales en filas (a,b,c,), indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos (P≤0.05 Método: 95.0 porcentaje HSD de Tukey)

CONCLUSIONES

Con los resultados anteriores se puede concluir que en el teñido de algodón con el extracto de la grana cochinilla es resistente a las altas temperaturas en comparación con el algodón teñido con colorante sintético. Se puede observar la importancia del tratamiento que se está aplicando para la fibra de algodón, debido a que se logra distinguir cuáles de ellos sí tienen diferencias significativas y cuales tienen un resultado similar ó igual, dependiendo así de la prueba de solidez a la cual fueron sometidos. Esto es importante, ya que nos permite tener un avance del comportamiento de las pruebas de solidez, además de su comparación con los colorantes sintéticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arroyo Figueroa G., Casimiro Rodríguez M., Cordova Perera N., Hernandez Carrillo N., Leal Sanchez Y., Javier Sanchez J. (2022). Comparacion de la solidez del color de fibras con colorantes naturales contra colorantes sintéticos. Verano de la ciencia. Volumen 16. Pag. 1-7.
2. Che J., y Yang X. (2022). A recent (2009–2021) perspective on sustainable color and textile coloration using natural plant resources. Review article. Heliyon 8 e10979. Contents lists available at ScienceDirect.
3. Recep Karadag (2023). Cotton Dyeing with Cochineal by Just in Time Extraction, Mordanting, Dyeing, and Fixing Method in the Textile Industry, Journal of Natural Fibers, 20:1, 1-11, DOI: 10.1080/15440478.2022.2108184. To link to this article: <https://doi.org/10.1080/15440478.2022.2108184>
4. Cruz Mojica K., Leon Santiago M., Varela Garcia E., Reyes Lezama M., Tapia Mendoza E. (2022). Nuevos avances en la extracción e identificación de cochinilla mexicana (*Dactylopius coccus*) en lana fresca teñida y lana teñida con envejecimiento artificialmente acelerado y descripción del color. Artículo de investigación Pag. 151-156.
5. Arroyo Figueroa G., Casimiro Rodríguez M. G., Córdoba Perera N., Hernández Carrillo N. J., Leal Sánchez Y. G., Javier Sánchez J. (2022). Comparación de la normatividad de las pruebas de solidez del color entre la empresa textil y el laboratorio de productos naturales. Verano de la ciencia. Volumen 16. Pag. 1-7.
6. Arroyo Figueroa G., Dzul Cauich J. G., Medina Saavedra T., y García Vieyra M. I. (2021). Dyeing and colour fastness in cotton and wool, using natural extracts of sunflower petals, onion peel and cocoa shell. Journal of natural fibers. Vol 19. No. 14. link: <https://doi.org/10.1080/15440478.2021.1950097>. Taylor and Francis.

CONTROL DE DEUTEROMICETOS MEDIANTE TERAPIA FOTODINAMICA

Juan Carlos Ramírez Granados, Blanca Estela Gómez Luna, César Díaz Pérez

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

jcramirez@ugto.mx

RESUMEN

Las plantas, al igual que otros seres vivos, son susceptibles a ser afectados por factores externos tales como las condiciones ambientales extremas, la deficiencia de nutrientes en el suelo y las plagas de insectos, bacterias y hongos que limitan su desarrollo y supervivencia. Algunos hongos fitopatógenos infectan a especies específicas de plantas; mientras que otros tienen la capacidad de infectar a múltiples especies y, por lo tanto, representan un mayor peligro para las plantas silvestres y los cultivos. Tal es el caso de algunos Deuteromicetos que incluyen a los hongos *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rizoctonia* sp. y *Colletotrichum* sp. que se encuentran entre los 10 hongos de más amplia afectación a diferentes especies de plantas a nivel mundial y que tienen presencia en el territorio nacional. Con la finalidad de preservar las plantas de interés forestal y para aumentar la productividad de los cultivos es importante controlar la proliferación de estos microorganismos fitopatógenos de manera efectiva. En este trabajo se estudió la factibilidad de inactivar Deuteromicetos que suelen encontrarse en el suelo, las raíces y/o la parte aérea de las plantas mediante terapia fotodinámica con azul de metileno como agente fotosensibilizador. Para este propósito, fueron cultivadas varias muestras de los hongos fitopatógenos en cajas de Petri con medio de cultivo de agar de papa y dextrosa, y luego las muestras se dividieron en grupos. Estos grupos de muestras con hongos fitopatógenos fueron tratados con disoluciones de azul de metileno a diferentes concentraciones, excepto los grupos de control. Después, todas las muestras fueron expuestas a la radiación luminosa visible durante periodos de tiempo específicos. Finalmente, se evaluó la capacidad de estos tratamientos de terapia fotodinámica con azul de metileno para eliminar a los hongos fitopatógenos o inhibir su crecimiento. Los resultados indican que la terapia fotodinámica con disoluciones de azul de metileno al 5% o mayores e irradiación visible de 5 días en periodos de 12 horas puede inhibir de manera efectiva el crecimiento de estos hongos fitopatógenos. Esto se debe a que el azul de metileno absorbido por estos fitopatógenos genera especies reactivas de oxígeno al ser irradiados con luz. Luego, estas especies reactivas de oxígeno destruyen el micelio de los hongos y los inactivan. Este método para el control de Deuteromicetos tiene la ventaja de estar diseñado para emplear radiación visible, simplificando su implementación en el campo ya que sólo necesita de la adición del agente fotosensibilizador y puede emplear la luz del sol.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de las personas requiere de la convivencia en armonía con los demás seres vivos. La salud de las plantas es de suma importancia para personas tanto en términos ambientales como alimentarios. La preservación de la diversidad de plantas forestales y agrícolas; así como la generación eficiente de productos agrícolas para la elaboración directa o indirecta de alimentos son temas estratégicos para el desarrollo de cualquier nación. La producción eficiente y a bajo costo de diversos cultivos agrícolas como maíz, arroz, trigo, cereales, frutas y vegetales entre muchos otros es indispensable para satisfacer las necesidades alimentarias de la población. Sin embargo, los cultivos de plantas pueden ser afectados por diversos factores ambientales y agentes externos que limitan el desarrollo de las plantas, su productividad e incluso pueden poner en riesgo su supervivencia. Entre los factores ambientales que pueden afectar a las plantas se encuentran las

condiciones climáticas adversas tales como las temperaturas extremas, inundaciones, sequías, granizo y el viento. Adicionalmente, el desarrollo de las plantas puede ser afectado por deficiencias de nutrientes en el suelo, y plagas de insectos; así como microorganismos patógenos tales como los virus, bacterias y hongos.

Para mejorar el rendimiento de los cultivos y preservar las plantas de interés forestal y comercial se han desarrollado una amplia variedad de productos agroquímicos como los fertilizantes, insecticidas, herbicidas, bactericidas y fungicidas que han demostrado una alta efectividad. Sin embargo, los productos agroquímicos tienen dos grandes desventajas que son su alto costo y el potencial riesgo de toxicidad para las personas, animales y el medio ambiente cuando son empleados en exceso. Incluso, algunos agroquímicos de uso masivo, como el glifosato, también son uno de los principales responsables de la pérdida de biodiversidad a nivel global y su uso está siendo prohibido cada vez en más países.

Por estas razones, existe un interés creciente en el desarrollo de productos y alternativas que ayuden a mantener alta la productividad de los cultivos y al mismo tiempo representen un riesgo nulo o mínimo para las personas, animales y plantas. Una de estas alternativas es el uso de la terapia fotodinámica en el control de microorganismos fitopatógenos por su capacidad para actuar durante periodos de tiempo cortos y de manera más focalizada en comparación con los bactericidas y fungicidas químicos convencionales.

En este trabajo se estudió la capacidad de la terapia fotodinámica con luz visible y azul de metileno para inhibir el crecimiento de algunos de los 10 hongos fitopatógenos con mayor afectación en la productividad de los principales cultivos alimenticios, y por su capacidad para infectar a múltiples especies de plantas, incluso después de años de permanecer de manera latente en el suelo o en forma de esporas que pueden ser transportadas por el aire y el agua. Para este propósito aplicamos varios tratamientos de terapia fotodinámica a muestras de hongos *Alternaria*, *Fusarium*, *Rizoctonia* y *Colletotrichum* usando diferentes fuentes de iluminación y disoluciones acuosas de azul de metileno a distintas concentraciones, para luego evaluar su actividad antifúngica a través de la medición del crecimiento radial de los hongos *in vitro* y de su velocidad de crecimiento.

TEORÍA

La terapia fotodinámica (TFD) consiste en la administración de una sustancia sobre el tejido infectado y la posterior irradiación con una dosis lumínica determinada, que origina moléculas excitadas que, a su vez, entregan energía a moléculas de oxígeno presentes en estado basal, las que se convierten en oxígeno singlete tóxico (Moreno *et al.*, 2007).

En los sistemas biológicos, estas especies citotóxicas desencadenan una serie de cambios bioquímicos que provocan la muerte de las células o microorganismos que se desean eliminar (Josefsen y Boyle, 2008). La TFD implica el uso de sustancias sensibles a la radiación lumínica denominadas agentes fotosensibilizantes o fotosensibilizadores (FS). Los FS, que generalmente suelen ser inocuos en la oscuridad, presentan sus efectos tóxicos en combinación con ciertas radiaciones. Así, este tipo de moléculas son capaces de excitarse mediante una radiación incidente con una longitud de onda determinada, alcanzando un estado transitorio denominado triplete. En este estado son moléculas altamente reactivas que tienden a transmitir su exceso de energía a otros sustratos, como el oxígeno molecular, dando origen a especies reactivas de oxígeno y volviendo a su estado basal (Gilaberte *et al.*, 2012). Estas reacciones también se denominan procesos fotosensibilizados de tipo I y tipo II según la naturaleza de los pasos primarios, es decir, la participación inicial de radicales intermedios que posteriormente son eliminados por el oxígeno o la

generación del singlete oxígeno ($^1\text{O}_2$) altamente citotóxico por transferencia de energía desde el sensibilizador fotoexcitado.

Proceso fotodinámico de tipo I: Implica la producción de radicales superóxido e hidroxilo, especies reactivas de oxígeno intermedias que al combinarse con biomoléculas son capaces de generar otros oxidantes como el peróxido de hidrogeno (H_2O_2). (Gilaberte, *et al.*, 2012). El FS en su estado excitado singlete o triplete reacciona con un sustrato o con el solvente en el cual está disuelto y se forman radicales libres por transferencia electrónica o abstracción de H^+ (reacciones fotoquímicas). Los radicales libres generados por el FS reaccionan con el triplete $^1\text{O}_2$ para formar radicales de peróxido que formarán otras especies reactivas de oxígeno (Marioni, J. 2017). A pesar de que el O_2 puede reaccionar con algunas biomoléculas, no ataca en forma significativa al ADN ni a los lípidos poliinsaturados, con el consecuente daño en la membrana celular (Fridovich, 1997). Su potencialidad como agente oxidante radica en su capacidad para generar especies oxidantes más potentes, como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo (HO^\cdot). El HO^\cdot es una de las especies más reactivas de oxígeno, ocasionando daño significativo en el ADN, como también en proteínas y lípidos celulares. Por lo tanto, se considera una de las especies reactivas de oxígeno más tóxicas.

Proceso fotodinámico de tipo II: Los agentes fotodinámicos de tipo II son aquellos que implican al oxígeno molecular de forma directa, generando un radical de corta duración, pero de un alto poder oxidante llamado oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), el cual es capaz de dañar directamente al material biológico (Gilaberte, *et al.*, 2012). En este mecanismo se produce una transferencia de energía triplete/triplete (proceso fotofísico). El FS en estado triplete excitado regresa a su estado fundamental al transferir su energía al $^3\text{O}_2$ que se transforma en $^1\text{O}_2$. Esta especie reactiva de oxígeno es un agente oxidante no selectivo que daña lípidos insaturados, colesterol, residuos de α -aminoácidos en proteínas (cisteína, histidina, metionina, tirosina y triptófano) con el consecuente daño en ADN y ARN (Gambino & Capitelli, 2016; Mattila *et al.*, 2015 citado en Marioni, J. 2017). Estos dos mecanismos fotosensibilizantes pueden ocurrir simultáneamente; y la proporción en la cual estos dos procesos ocurren depende de la naturaleza del FS, del sustrato y de la concentración de $^3\text{O}_2$ (Dai *et al.*, 2012).

El azul de metileno como agente fotosensibilizante

Es un colorante de naturaleza orgánica con múltiples funciones que también es conocido con el nombre de cloruro de metiltionina. Su fórmula molecular es $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$ (fig. 1). Fue sintetizado en 1876 para teñir prendas textiles; sin embargo, también ha sido utilizado para fines médicos o para investigar organismos microscópicos (Lifeder, 2019). Posee un peso molecular de 319.85 g/mol y un punto de fusión 100°C . En solución tiene una densidad de 1.757 g/cm^3 y es completamente inodoro. En su estado sólido se presenta como cristales muy finos de color verde oscuro con cierto brillo color bronce, pero en solución toma una tonalidad azul fuerte. Comúnmente se utiliza como solvente agua, pero también es soluble en cloroformo y en alcohol (Lifeder, 2019).

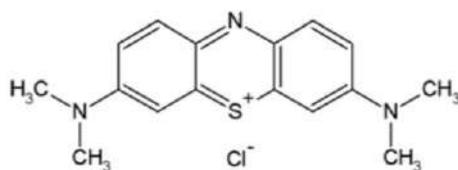


Figura 13. Estructura molecular del azul de metileno.

El azul de metileno tiene una longitud de onda de absorción máxima a 664 nm (Chaparro, C. *et al.*, 2014), además presenta bajo costo de venta y es accesible para el grueso de la población común, lo que lo vuelve una opción accesible para todo el público.

MÉTODOS Y MATERIALES

Activación de los hongos: Para la activación de los hongos con los cuales se realizaron las pruebas se prepararon 250 ml de medio de cultivo de agar de papa y dextrosa (PDA) de la marca BD Bioxon® y agua destilada. En un vaso de precipitado se añadieron 9.75 g de agar y 250 ml de agua destilada según la formulación del fabricante. Se mezcló en una plancha de calentamiento con una agitación de 400 rpm durante 10 min. Una vez teniendo el medio completamente disuelto, se esterilizó en una autoclave a una presión de 15 psi a 120°C durante 15 min. Se sembraron 4 cajas Petri de 60x15 mm con cada uno de los siguientes hongos: *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rizoctonia* sp. y *Colletotrichum* sp. teniendo un total de 20 cajas Petri y dejando un periodo de 4 días para su crecimiento; fig. 2.

Siembra de hongos para tratamientos con terapia fotodinámica y azul de metileno: Para la siembra de los hongos de cada fase experimental se preparó 1 L de medio de cultivo PDA y agua destilada. Se prepararon 500 ml de medio de cultivo en 2 vasos de precipitado, se añadieron 19 g de agar y 500 ml de agua destilada a cada vaso según la formulación del fabricante. Se mezcló en una plancha de calentamiento con una agitación de 400 rpm durante 10 min. Una vez teniendo el medio preparado, se llevó a esterilizar a la autoclave a una presión de 15 psi y 120°C durante 15 min. Se sembraron 12 cajas Petri de 100x15 mm de cada hongo (*Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rizoctonia* sp. y *Colletotrichum* sp.,) teniendo un total de 48 cajas Petri y dejando un periodo de 3 días para su crecimiento antes de aplicar los tratamientos de terapia fotodinámica; fig. 3.

Soluciones acuosas con azul de metileno: En la tabla 1 se muestran las claves de identificación de los tratamientos de terapia fotodinámica, las concentraciones de las disoluciones de azul de metileno y el tipo de radiación luminosa empleada en cada caso.

Tabla 1. Tratamientos de terapia fotodinámica aplicados a hongos fitopatógenos.

Número de tratamiento	Concentración de azul de metileno	Radiación luminosa
TFD1	0.1%	Radiación solar indirecta (sombra). Iluminancia de 300 lx.
TFD2	0.5%	Radiación solar indirecta (sombra). Iluminancia de 300 lx.
TFD3	1%	Radiación solar indirecta (sombra). Iluminancia de 300 lx.
TFD4	3%	Radiación solar directa. Iluminancia de 100000 lx.
TFD5	5%	Radiación solar directa. Iluminancia de 100000 lx.
TFD6	10%	Radiación solar directa. Iluminancia de 100000 lx.

TFD7	3%	Lámpara LED blanca. Iluminancia de 4600 lx.
TFD8	5%	Lámpara LED blanca. Iluminancia de 4600 lx.
TFD9	10%	Lámpara LED blanca. Iluminancia de 4600 lx.

Fase experimental 1: Tratamientos TFD1, TFD2 y TFD3.



Figura 2. Activación de los hongos *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rizoctonia* sp. y *Colletotrichum* sp.: primera siembra para la aplicación de tratamientos mediante terapia fotodinámica antimicrobiana.

Fase experimental 2: Tratamientos TFD4 a TFD9.

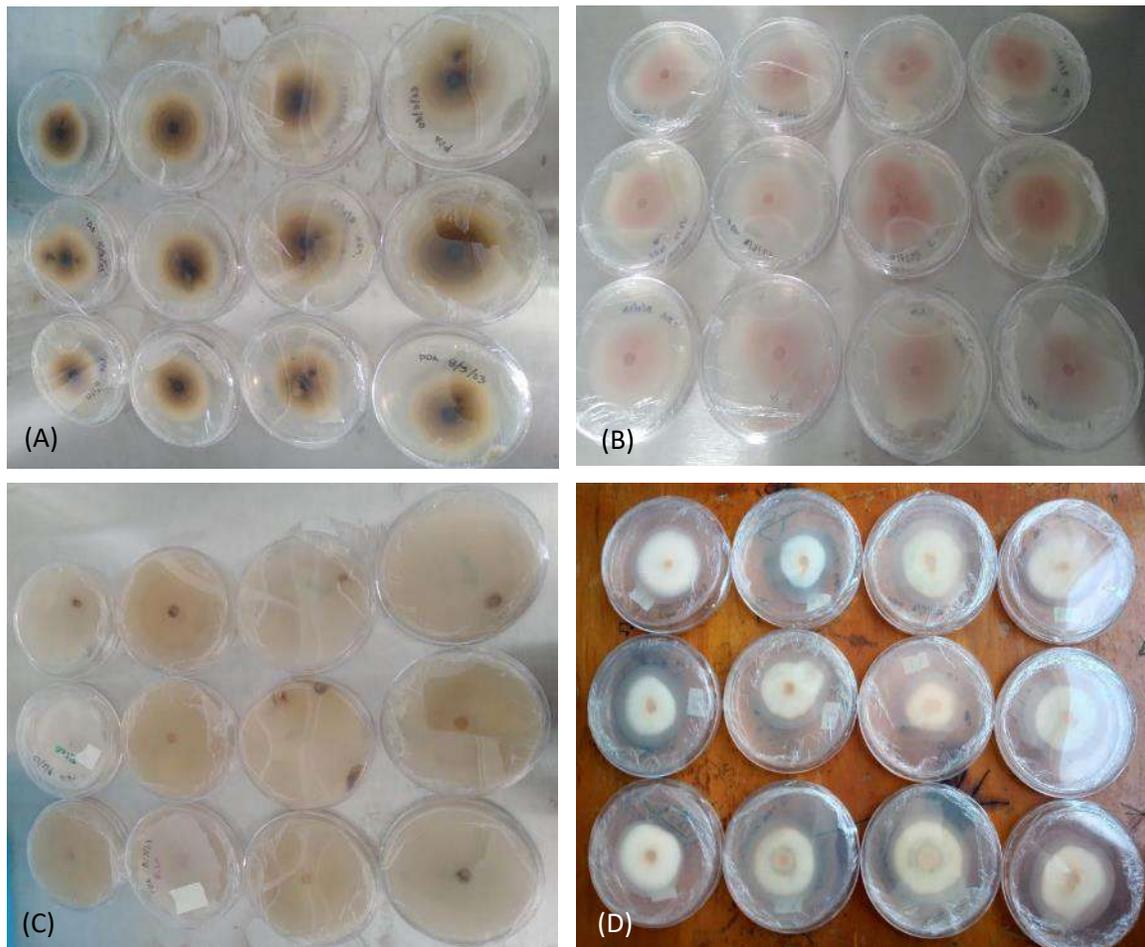


Figura 3. Cajas Petri sembradas con: A) *Alternaria* sp., y B) *Fusarium* sp., C) *Rizoctonia* sp., y D) *Colletotrichum* sp.

Una vez que los hongos alcanzaron el desarrollo inicial, se midieron los radios de crecimiento y luego fueron rociados con 0.5 ml de una solución de azul de metileno distinta en cada tratamiento (fig. 4). En el caso de los tratamientos TFD1, TFD2 y TFD3 se empleó la radiación solar indirecta dentro del laboratorio de ciencias básicas de la Universidad de Guanajuato Campus Celaya-Salvatierra con iluminancia de 300 lx. Para los tratamientos TFD4, TFD5 y TFD6 se utilizó la radiación directa del sol (fig. 5) en un día despejado obteniendo una iluminancia cercana a los 100000 lx, y para los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9 se utilizó un contenedor opaco con una lámpara LED de luz blanca en su interior (fig. 6) que proporcionó a los hongos 4600 lx.

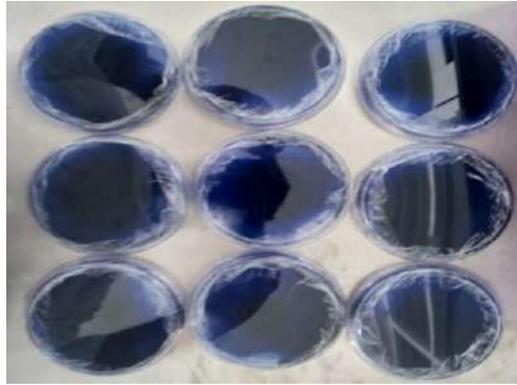


Figura 4. Cajas Petri con hongos tratados mediante TFD con azul de metileno.



Figura 5. Hongos fitopatógenos tratados mediante terapia fotodinámica con azul de metileno y luz solar directa, tratamientos TFD4, TFD5 y TFD 6.



Figura 6. Contenedor con muestras de hongos e iluminación con una lámpara LED de luz blanca para los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9.

RESULTADOS

Para los tratamientos TFD1, TFD2 y TFD3 se observó que no hubo diferencia entre los hongos tratados con terapia fotodinámica y el control; es decir no se apreció inhibición en el crecimiento de los hongos. Esto posiblemente se debió a la baja concentración de azul de metileno en la solución fotosensibilizante y a la baja iluminancia de la radiación solar indirecta.

En los tratamientos TFD4, TFD5 y TFD6 en los que se utilizó radiación solar directa, se obtuvo una iluminancia muy superior a la usada en los tratamientos anteriores, alcanzando un valor cercano a los 100000 lx; sin embargo: la temperatura de las muestras también se incrementó significativamente, provocando la evaporación de la humedad en el medio de cultivo de los hongos, lo cual a su vez generó la pérdida de hermeticidad de la caja Petri. Debido a lo anterior, todas las muestras de hongos fueron aniquiladas posiblemente por las altas temperaturas, incluso los hongos de control.

Posteriormente, en los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9 se empleó una lámpara LED de luz blanca para evitar la exposición a altas temperaturas y para tener un mejor control sobre la intensidad y duración de los periodos de irradiación que fue de 12 horas por día. En esta última serie de experimentos, se midieron los radios de crecimiento de las colonias de hongos en las cajas Petri de manera diaria y durante 5 días a partir de la aplicación del agente fotosensibilizante. Las mediciones de los radios de crecimiento de los hongos *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Rizoctonia* sp. y *Colletotrichum* sp. tratados con terapia fotodinámica se muestran en las tablas 2, 3, 4 y 5; respectivamente.

Tabla 2. Crecimiento radial de muestras de *Alternaria* sp. tratadas con TFD.
Unidades en centímetros.

Fotosensibilizante	Código	Inicial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Control (sin fotosensibilizante)	C.1	1.87	2.3	2.79	3.245	3.8	4.25
	C.2	1.66	2.235	2.81	3.32	4.25	4.25
	C.3	1.895	2.46	3.025	3.58	4.25	4.25
Azul de metileno al 10%	1.1	1.745	2.025	2.105	2.27	2.265	2
	1.2	1.76	2.34	2.51	2.375	2.175	2.345
	1.3	1.84	2.305	2.57	2.7	2.13	2.12
Azul de metileno al 5%	2.1	1.76	2.49	2.095	2.595	2.17	1.99
	2.2	1.73	2.2	2.415	2.38	2.42	2.185
	2.3	1.81	2.38	2.445	2.445	2.435	2.12
Azul de metileno al 3%	3.1	1.82	2.085	2.165	2.2	2.115	2.14
	3.2	1.775	2.16	2.195	2.195	2.2	2.17
	3.3	1.415	2.235	2.81	2.975	4.25	4.25

Tabla 3. Crecimiento radial de muestras de *Fusarium* sp. tratadas con TFD.
Unidades en centímetros.

Fotosensibilizante	Código	Inicial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Control (sin fotosensibilizante)	C.1	1.98	2.49	3.06	3.57	4.25	4.25
	C.2	1.985	2.365	2.5	2.435	4.25	4.25
	C.3	1.915	2.58	2.83	3.305	3.325	3.255
Azul de metileno al 10%	1.1	2.025	2.38	2.505	2.46	2.45	2.445
	1.2	1.92	2.095	2.43	2.38	2.42	2.365
	1.3	1.85	2.265	2.655	2.705	2.605	2.615
Azul de metileno al 5%	2.1	1.97	2.285	2.3	2.48	2.445	2.505
	2.2	1.985	2.3	2.315	2.395	2.08	2.175
	2.3	1.76	1.38	1.515	2.875	2.3	2.67
Azul de metileno al 3%	3.1	1.94	2.195	2.14	2.27	2.005	2.205
	3.2	1.9	2.755	3.19	2.62	3.22	2.705
	3.3	1.995	2.33	2.455	2.5	2.5	2.475

Tabla 4. Crecimiento radial de muestras de *Rizoctonia* sp. tratadas con TFD.
Unidades en centímetros.

Fotosensibilizante	Código	Inicial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Control (sin fotosensibilizante)	C.1	2.565	3.55	3.95	4.25	4.25	4.25
	C.2	2.5	3.415	4.25	4.25	4.25	4.25
	C.3	2.795	3.64	3.825	3.885	4.25	4.25
Azul de metileno al 10%	1.1	2.91	3.01	3.235	3.235	3.13	3.245
	1.2	2.665	2.89	3.49	3.235	3.005	3.425
	1.3	2.845	3.435	3.565	3.615	3.18	3.485
Azul de metileno al 5%	2.1	2.665	3.01	3.145	3.405	3.265	2.885
	2.2	2.855	2.935	3.395	3.46	3.215	3.305
	2.3	2.875	3.565	3.025	3.475	3.425	3.455
Azul de metileno al 3%	3.1	3.305	3.15	3.39	3.415	3.58	4.25
	3.2	3.2	2.735	3.15	3.465	4.25	3.315
	3.3	2.855	3.44	3	3.345	3.76	4.25

Tabla 5. Crecimiento radial de muestras de *Colletotrichum* sp. tratadas con TFD.
Unidades en centímetros.

Fotosensibilizante	Código	Inicial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Control (sin fotosensibilizante)	C.1	1.3	1.685	2.105	2.525	3.035	3.58
	C.2	1.265	1.64	1.975	2.4	2.925	3.28
	C.3	1.335	1.75	2.055	2.49	2.965	3.385
Azul de metileno al 1%	1.1	1.32	1.73	2.02	2.03	2.03	1.96
	1.2	1.265	1.66	1.81	1.8	1.85	1.87
	1.3	1.31	1.64	1.715	1.715	1.775	1.735
Azul de metileno al 0.5%	2.1	1.285	1.645	1.985	1.925	1.88	1.87
	2.2	1.255	1.645	1.745	1.85	1.855	1.885
	2.3	1.3	1.7	1.95	2.225	2.985	3.015
Azul de metileno al 0.1%	3.1	1.325	1.73	1.99	2.15	2.165	2.815
	3.2	1.27	1.525	1.64	1.645	1.8	1.96

3.3 1.295 1.68 2.045 2.125 1.955 2.03

Como los experimentos se realizaron por triplicado, el tamaño de las muestras de hongos fue promediado para cada día y los resultados se muestran en las figuras 7, 8, 9 y 10.

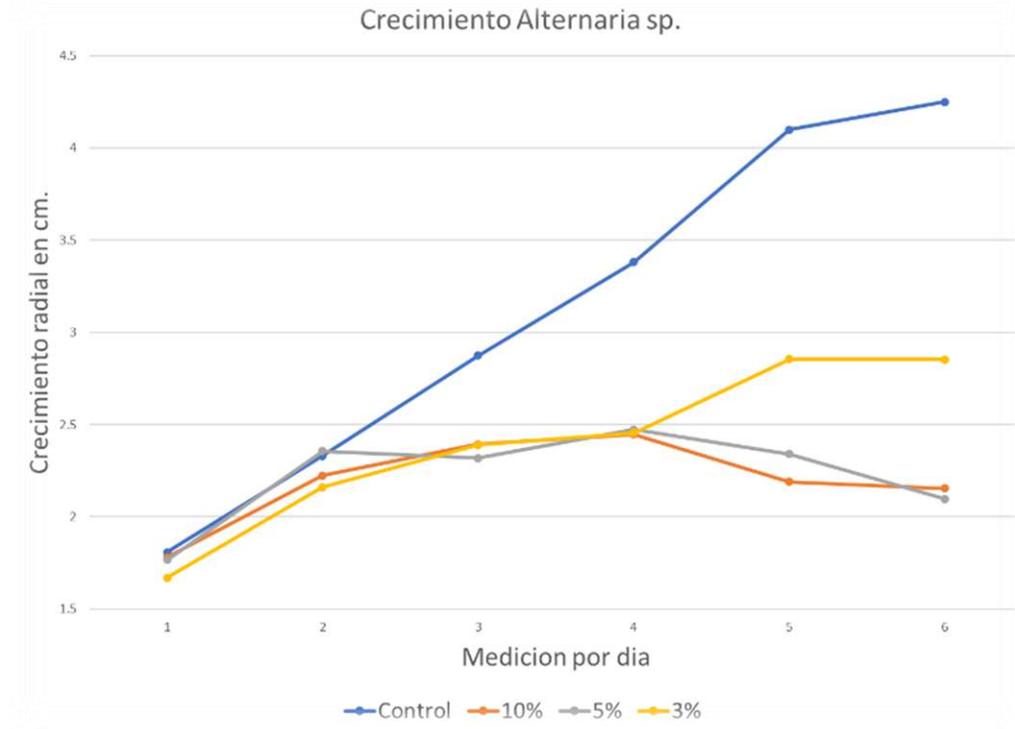


Figura 7. Comparativa de crecimiento para muestras de *Alternaria* sp. tratadas con terapia fotodinámica y azul de metileno mediante los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9.

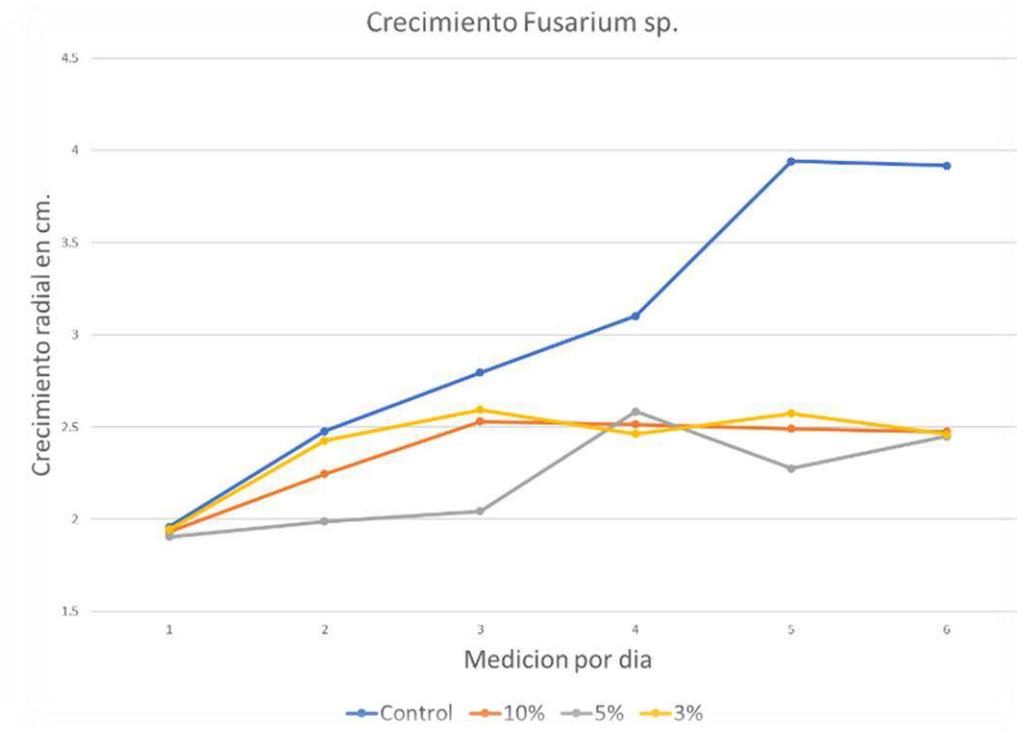


Figura 8. Comparativa de crecimiento para muestras de *Fusarium sp.* tratadas con terapia fotodinámica y azul de metileno mediante los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9.

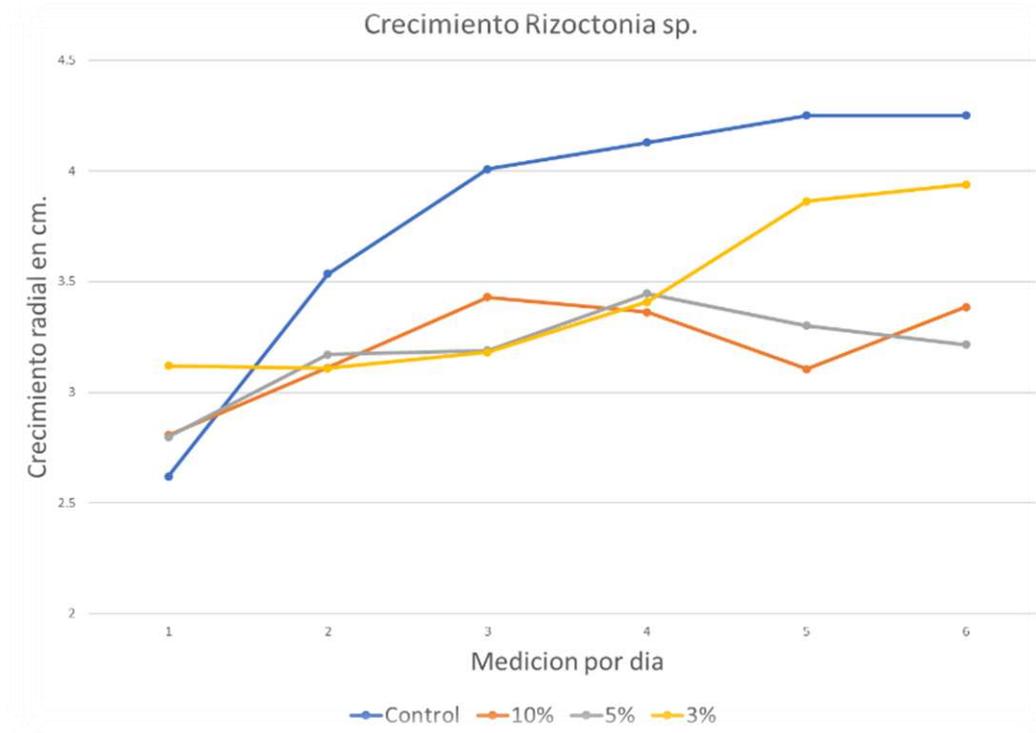


Figura 9. Comparativa de crecimiento para muestras de *Rizoctonia* sp. tratadas con terapia fotodinámica y azul de metileno mediante los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9.

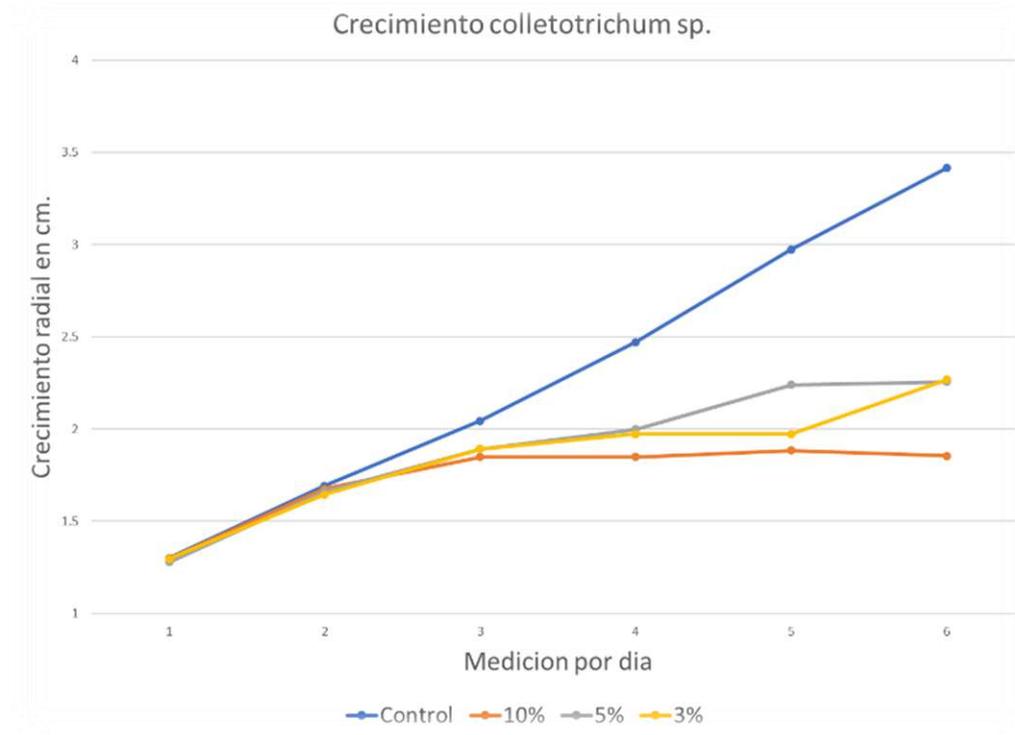


Figura 10. Comparativa de crecimiento para muestras de *Colletotrichum* sp. tratadas con terapia fotodinámica y azul de metileno mediante los tratamientos TFD7, TFD8 y TFD9.

La información de las gráficas fue usada para obtener las ecuaciones características de crecimiento utilizando la linealización de la cinética de Monod para obtener la *velocidad específica máxima de crecimiento* (μ_{max}) considerando que la concentración de sustrato es la misma en todos cultivos. La evaluación de μ_{max} sirve como criterio para determinar si hay una inhibición de crecimiento por parte de los tratamientos aplicados a los hongos fitopatógenos.

Linealización de cinética de crecimiento de Monod

$$\mu = \frac{\mu_{max} * S}{K_s + S} \tag{1)}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\frac{\mu_{max} * S}{K_s + S}} \tag{2)}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s + S}{\mu_{max} * S} \tag{3)}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{max} * S} + \frac{S}{\mu_{max} * S} \tag{4)}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{max} * s} + \frac{1}{\mu_{max}} \quad 5)$$

Utilizando la ecuación de la recta como analogía:

6)

$$y = mx + b$$

Entonces:

$$b = \frac{1}{\mu_{max}} \quad 7)$$

$$\mu_{max} = \frac{1}{b} \quad 8)$$

Comparando las μ_{max} de los tratamientos se tienen los resultados mostrados en las tablas 6, 7, 8 y 9.

Tabla 6. Velocidad de crecimiento para muestras de *Alternaria* sp. tratadas con TFD y azul de metileno.

Tratamiento	$\mu_{max}(h^{-1})$	% de crecimiento respecto al control	Diferencia de crecimiento (%)
Control	0.76	100	100
Azul de metileno al 10%	0.50	65.57	34.43
Azul de metileno al 5%	0.49	64.54	35.46
Azul de metileno al 3%	0.63	83.13	16.87

Tabla 7. Velocidad de crecimiento para muestras de *Fusarium* sp. tratadas con TFD y azul de metileno.

Tratamiento	$\mu_{max}(h^{-1})$	% de crecimiento respecto al control	Diferencia de crecimiento (%)
Control	0.63	100	100
Azul de metileno al 10%	0.49	78.36	21.64
Azul de metileno al 5%	0.56	88.26	11.74
Azul de metileno al 3%	0.47	74.68	25.32

Tabla 8. Velocidad de crecimiento para muestras de *Rizoctonia* sp. tratadas con TFD y azul de metileno.

Tratamiento	$\mu_{max}(h^{-1})$	% de crecimiento respecto al control	Diferencia de crecimiento (%)
Control	0.36	100	100
Azul de metileno al 10%	0.34	94.43	5.57
Azul de metileno al 5%	0.34	94.65	5.35
Azul de metileno al 3%	0.36	99.25	0.75

Tabla 9. Velocidad de crecimiento para muestras de *Colletotrichum* sp. tratadas con TFD y azul de metileno.

Tratamiento	$\mu_{max}(h^{-1})$	% de crecimiento respecto al control	Diferencia de crecimiento (%)
Control	1.203079885	100	100
Azul de metileno al 10%	0.717154332	59.60986804	40.39013196
Azul de metileno al 5%	0.82176021	68.30470869	31.69529131
Azul de metileno al 3%	0.80070462	66.55456802	33.44543198

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos podemos decir que los tratamientos de terapia fotodinámica con disoluciones acuosas de azul de metileno al 5% y 10% tuvieron una inhibición mayor en el crecimiento de los hongos respecto a los controles; mientras que los tratamientos con disoluciones de azul de metileno al 3% o menos presentaron poca inhibición. Además, la terapia fotodinámica con azul de metileno no tuvo un efecto inhibitorio significativo en el hongo *Rizoctonia* sp. En contraparte, para el hongo *Colletotrichum* sp. todos los tratamientos resultaron en una reducción de la velocidad de crecimiento de más del 30% respecto al control. Esto último podría deberse a que este hongo tiene una textura algodonosa de color blanco que permite una mejor absorción del fotosensibilizante en comparación con los otros tres tipos de hongos analizados que presentaban una pigmentación propia.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra por el apoyo recibido; así como a Hugo Guzmán Pereza y Abraham Misael Briseño Segoviano por su invaluable colaboración en este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Moreno AGA, Eng LA, Alvarado DA, *et al.* (2007) Terapia fotodinámica. *Med Cutan Iber Lat Am.* 35(6), 255-268.
2. Gilaberte Y, Paz-Cristobal M. P., Rezusta A., Aspiroz C. (2012). Antimicrobial photodynamic therapy in dermatology. *Elsevier España* 27(5), 274–282.
3. Marioni, J. (2017) Compuestos naturales fotosensibilizantes como potenciales agentes antifúngicos sobre biofilms. Tesis de doctorado en ciencias químicas. Universidad Nacional de Cordoba. Cordoba, Argentina.
4. Fridovich, I. (1997). Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. *Journal of Biological Chemistry*, 272(30), 18515-18517.
5. Lifeder. (2019). Azul de metileno: características, preparación, usos. Recuperado de: <https://www.lifeder.com/azul-de-metileno/>.
6. Chaparro, C. V., Cabanzo, R., & Ospino, E. M. (2014). Estudio de la adsorción de azul de metileno sobre óxido de grafeno. *Revista Colombiana de materiales*, 5, 131-139.

MEJORAMIENTO DE SUELO SALINO POR ADICIÓN DE BIOMASA DE DEGRADACIÓN DE PLÁSTICOS

Erika Adriana Villeda Gutiérrez¹, Manuel Alejandro Camarillo López¹, Verónica Itzel Reyes Cirigo¹, Marcos Ignacio Jiménez Zúñiga¹, Claudia Concepción Claverie Romero¹, Edith Hortensia Ramírez Hernández¹, Jonathan Alejandro Hurtado Mariles².

¹Universidad Tecnológica de Tecámac, ²Instituto Politécnico Nacional-UPIBI
eavg.uttec@gmail.com

RESUMEN

Los plásticos son residuos que se producen en grandes cantidades diariamente, si no se desechan de manera adecuada generan una problemática para el medio ambiente. Su degradación natural se da en un periodo de entre 100-1,000 años aproximadamente, haciéndolo un material de descomposición muy lenta. Los productos de plástico que contaminan más, provienen del polietileno, que se deriva del gas natural y del petróleo; entre ellos, encontramos cables, hilos, tuberías, botellas de bebidas, bolsas, contenedores, entre otros. Debido a que los plásticos difícilmente pueden ser degradados por el entorno, se han generado plásticos clasificados como biodegradables; sin embargo, ninguno ha demostrado ser totalmente degradable de forma natural; por lo tanto, su eliminación es un problema ambiental de dimensiones considerables. La biorremediación es una técnica que emplea células o microorganismos capaces de acelerar la descomposición de residuos; tales como los plásticos; la biomasa generada de estos procesos de biodegradación posee niveles de N₂ considerables.

Basado en diversas características fisicoquímicas la NOM-021-RECNAT-2000 clasifica a los suelos; los denominados como salinos, son limitados en su uso agrícola por las altas concentraciones de sales y bajos niveles de N₂ biodisponible. El objetivo fue evaluar la influencia de la adición de biomasa generada de la biodegradación de plásticos (PET y oxodegradables) en suelos salinos; a través del monitoreo de cultivo de *Raphanus savitus*. Se realizó la degradación de los plásticos por tres procesos: 1) enzimático (peroxidasas), 2) fisicoquímico (UV) y 3) microbiológico (*Pseudomonas aeruginosa* y *Pleurotus ostreatus*). Posteriormente se cuantificó el N₂ total a la biomasa generada y al suelo que se empleó; este se tomó de la extensión de terreno de la UTTEC, clasificado como salino. Posteriormente se adicionó biomasa en cantidades de 1, 2.5 y 5 mL a 300 g de suelo, se mezcló con una cuchara y se dejó suelo sin biomasa como blanco (cada concentración se realizó por triplicado). Se realizó la siembra de 3 semillas de *Raphanus savitus* por maceta a una profundidad de 0.5 cm (recomendación de la semilla), se observó y midió el crecimiento de la plántula por 30 días para finalmente sacar el tubérculo y medir su tamaño.

Los resultados muestran que la biomasa contiene el doble de N₂ total que el suelo clasificado como salino empleado en el estudio. Con respecto al crecimiento de la plántula, estas fueron 55% más altas en macetas con uso de biomasa de 1 y 2.5 mL hasta la semana 3 de crecimiento, con respecto a la altura de las plántulas del grupo control. El crecimiento en la última semana no fue significativo y en el grupo donde se usó la adición de 5 mL de biomasa el crecimiento fue menor al del grupo control. El tamaño del tubérculo fue 45% más grande donde se adicionó biomasa en 1 y 2.5 mL con respecto al control. Podemos concluir que la adición de biomasa; producto de la biodegradación de plásticos, adicionó N₂ al suelo salino favoreciendo su capacidad de cultivo, evaluado con el crecimiento de *Raphanus savitus*.

INTRODUCCIÓN

La producción de plásticos durante los últimos años ha crecido en forma considerable, particularmente la de aquellos relacionados directamente con la industria de empaques y embalajes al grado de que, actualmente, alcanza el 40% del volumen total de la basura urbana (Gutiérrez, 2013).

Este hecho se ha convertido en una gran problemática ambiental, debido a los residuos de plásticos, principalmente bolsas y botellas, obstruyen los drenajes, acumulándose en barrancas, ríos, lagos y llegando hasta los mares. La situación debería ser suficiente motivo para reducir la producción o propiciar su reciclaje a nivel global. Aunque se ha pensado que la biodegradación de plásticos (como el PET y la bolsa oxo-degradable), podría ser la solución, aún no se han encontrado los procesos fisicoquímicos o microbiológicos que lleven a cabo su degradación en corto tiempo y logren biodegradarlos totalmente.

El uso de la biorremediación es una solución para reducir la contaminación de estos residuos; estos son procesos que emplean sistemas biológicos para degradar tóxicos presentes en el ambiente, o convertirlos en compuestos de menor toxicidad. Los principales agentes de remediación son las plantas (fitorremediación), los microorganismos y las asociaciones entre éstos. Adicionalmente, en muchas ocasiones se utiliza un conjunto con procesos físicos o químicos para mejorar la eficacia de la degradación.

Investigaciones realizadas en la universidad tecnológica de Tecámac muestran que el uso de consorcios microbianos y procesos fisicoquímicos favorecen e incrementan la degradación de plásticos como el PET y el oxo-degradable; mostrando resultados de más del 80% de la degradación del plástico bajo estos tratamientos.

Diversas fuentes mencionan que el uso de microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Pleurotus ostreatus* en diversos procesos, es una fuente importante de nitrógeno (N_2) potencialmente asimilable. El N_2 es un elemento indispensable en el metabolismo de plantas; este elemento es tomado de la composición del suelo. Sin embargo, hay suelos cuyos niveles de este elemento es muy bajo, provocando que sean poco considerados para el cultivo. Uno de los procesos usados para mejorar las condiciones de cultivo del suelo, es la adición superficial de bioelementos como el S, N_2 y el P.

Considerando estos antecedentes el objetivo de este estudio fue determinar los niveles de N_2 en la biomasa generada como resultado del tratamiento de biodegradación de plásticos y emplearlo como un medio enriquecedor de suelo.

TEORÍA

1. Plásticos

El término “plástico”, proveniente del griego y significa “*que puede ser moldeado por el calor*”. Un plástico es un polímero; es decir, un material formado por la unión repetitiva de miles de átomos hasta formar moléculas de gran tamaño, conocidas como macromoléculas. Son compuestos orgánicos integrados principalmente de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, cloro, azufre, silicio y fósforo.

Existen distintos tipos de polímeros, los que están formados por un mismo monómero unido de manera repetitiva y los que están constituidos por dos o tres monómeros diferentes. Asimismo, dependiendo de estas características se obtendrán ramificaciones y un peso molecular del polímero para cada uno. Estos aspectos determinarán el uso final del plástico.

Al agregársele aditivos modifica sus propiedades, de ahí que pueda ser transformado y mejorar su resistencia. De esta manera, algunos aditivos sirven para darle mayor resistencia, para protegerlo de la radiación ultravioleta, mientras otros se utilizan como colorantes, retardantes de flama y plastificantes, entre otros.

Aunque de manera natural existen elementos de naturaleza polímero (la celulosa, la seda el almidón, etcétera), la materia prima para obtener los polímeros de síntesis, como el plástico, provienen de recursos fósiles como el petróleo (Santillán, 2018).

Debido a la gran diversidad de polímeros existentes pueden clasificarse de muchas maneras: según su origen, en función de su estructura interna o de la clase de monómeros que los conforman, en función de sus propiedades mecánicas o químicas, o por sus propiedades térmicas (Labeaga, 2018).

Las clasificaciones más conocidas de estos materiales son considerando,

A) Su origen:

-Naturales: Existen en la naturaleza como tales. Las biomoléculas pueden ser consideradas polímeros naturales.

-Semisintéticos: Han sido obtenidos mediante la transformación de un polímero natural, por ejemplo, el caucho vulcanizado.

-Sintéticos: Obtenidos industrialmente, haciendo reaccionar al monómero correspondiente, por ejemplo, el polietileno, nylon o polietileno.

B) Su estructura interna:

-Termoplásticos: Son aquellos que, por su estructura interna, formada por cadenas lineales, se desarmen fácilmente con el calor y se reconstruyen al enfriarse, pueden fundirse y volver a fabricarse muchas veces.

-Termoestables: Son aquellos que, por su estructura interna, formada por cadenas entrecruzadas, se degradan con el calor antes de que el plástico se funda, solo pueden fundirse y fabricarse una vez.

-Elastómeros: Son un tipo de termoestables, con lo cual solo pueden fundirse una vez, pero debido a su estructura interna con cadenas ramificadas, presentan un elevado grado de elasticidad como el Caucho natural, caucho sintético y Neopreno (Cedrón, Landa y Robles, 2011).

El polietileno (PE) es un tipo de plástico de elevado peso molecular con estructura química $[\text{CH}_2=\text{CH}_2]_n$, su densidad varía conforme a la temperatura con usos múltiples como la elaboración de bolsas plásticas, láminas para envasado de todo tipo de alimentos, fármacos y productos agroindustriales, contenedores herméticos de uso casero, tuberías para riego.

El PE es un material altamente recalcitrante e inerte, se obtiene principalmente a partir del petróleo y del gas natural, por lo que su degradación es compleja inclusive después de más de 100 años alojados en vertederos enterrados (Gómez, 2021).

2. Biodegradación

La degradación es un proceso dirigido a modificar la estructura del polímero para hacerlo vulnerable y que desaparezca como residuo. Es Irreversible produciendo cambios en el polímero relacionado con la pérdida de su estructura química, de tal forma que las propiedades físicas del material se deterioran, se observan variaciones tanto físicas como químicas en el mismo. Entre las modificaciones físicas se describe la pérdida de brillo y color, formación de grietas, aparición de

zonas pegajosas, y endurecimiento con la consiguiente pérdida de propiedades. Los cambios químicos producidos van dirigidos fundamentalmente a la aparición de grupos funcionales nuevos que se ha comprobado facilitan la ruptura de las cadenas macromoleculares.

Los procedimientos de degradación de plásticos que existen actualmente son: degradación térmica, por oxidación, por hidrólisis, fotólisis y la biodegradación.

La biodegradación es la descomposición aeróbica o anaeróbica de un material por acción enzimática de microorganismos tales como bacterias, hongos y algas bajo condiciones normales del medio ambiente. Son degradados por acción enzimática de los microorganismos bajo condiciones normales del medio ambiente. La mayoría de los plásticos son inmunes al ataque de microorganismos, levaduras y hongos, sin embargo, se ha demostrado que aquellos que han sufrido primero una fotooxidación, son vulnerables a ciertos microorganismos y a las enzimas generadas por éstos.

En condiciones aerobias, los productos de la biodegradación son: CO_2 y H_2O ; estos son absorbidos por la naturaleza y así se cierra el ciclo del C. Una vez que un producto cumple con su vida útil, pasa a la categoría de residuo y cuando es recuperado por la naturaleza a través de la biodegradación, el ciclo se ha completado y esa materia vuelve a entrar al proceso (Muñoz, 2014). *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria de la familia *Pseudomonadaceae*, genero *Pseudomonas*; *P. aeruginosa* tiene varias aplicaciones biotecnológicas, sobre todo en el área ambiental; es uno de los pocos microorganismos capaces de degradar alcanos de cadena ramificada que produce biosurfactantes que son útiles para la limpieza de suelos contaminados con hidrocarburos o con metales pesados; y que produce enzimas, como la lipasa, con distintas aplicaciones potenciales.

El género *Pseudomonas* basan gran parte de su alimentación en carbono, volviéndolas microorganismos capaces de degradar rápidamente derivados de este material, como plástico, al someterse a un medio donde éste último sea la fuente principal de carbón.

Pleurotus ostreatus es un hongo saprofítico o parásito débil, descomponedor del grupo de la podredumbre blanca que crece de forma natural en árboles, principalmente en los valles de los ríos; recientemente se encontró evidencia de su eficiencia en la degradación de plásticos como PET (Alarcón, 2017).

Resultados de investigaciones realizadas en la universidad tecnológica de Tecámac mostraron qué, un tratamiento de degradación basado en procesos fisicoquímicos, enzimáticos y microbiológicos, favorece la degradación de los plásticos oxo-degradables y PET en más del 80%. En este proceso se usó la exposición a UV a λ_{corta} , como tratamiento físico; peroxidasas de rábano, como tratamiento enzimático; y un complejo con *Pseudomonas aeruginosa* y *Pleurotus ostreatus*, como tratamiento microbiológico; además, un ensayo previó mostro niveles considerables de N_2 en la biomasa generada en el proceso de biodegradación de plásticos (Jiménez, 2015; Alcántara, 2020).

3. Características del suelo.

El suelo es la porción más superficial de la corteza terrestre, constituida en su mayoría por residuos de roca provenientes de procesos erosivos y otras alteraciones físicas y químicas, así como de materia orgánica fruto de la actividad biológica que se desarrolla en la superficie (SEMARNAT, 2020). Se trata de una superficie sumamente variada y multiforme, sobre la cual se producen los fenómenos climáticos como la lluvia, el viento, etc. De igual manera, el suelo es escenario de complejos procesos fisicoquímicos que impactan directamente en la fertilidad del mismo.

La NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos (muestreo y análisis); considera diferentes parámetros fisicoquímicos para su clasificación; tales como conductividad, salinidad, niveles de N_2 , iones (Ca, K, P), entre otros. Basado en esta norma, el suelo de los alrededores de la Universidad Tecnológica de Tecámac está

clasificado como suelo salino, poco apto para cultivo. Estas características pudieran verse mejoradas con un enriquecimiento de los niveles de N₂ en el suelo.

PARTE EXPERIMENTAL

1- Generación de biomasa.

La biomasa empleada en la parte experimental fue obtenida en las pruebas de degradación fisicoquímica-enzimática-microbiológica de los plásticos PET y oxo-degradable por Alcántara (2020).

2- Muestreo de suelo.

Se seleccionó un área de suelo aparentemente homogénea, definiendo 1 m de distancia de los 5 puntos de muestreo (NOM-021-RECNAT-2020) y se tomaron muestras de 100 g a profundidad de 30 cm en cada punto de muestreo. Una vez recolectadas las muestras, se extendieron y eliminaron restos de material orgánico, posteriormente se realizó la mezcla por agitación de todos los puntos de muestreo para finalmente realizar un tamizaje con malla de tamaño de poro de 2 mm de diámetro. Se etiquetó, almacenó en frascos de vidrio y se resguardó en un lugar con poca humedad a temperatura ambiente hasta el día del análisis

3- La determinación de los niveles de N₂ se realizó según la NOM-021-RECNAT-2020, por digestión ácida y Kjndall. Esta determinación se realizó en muestras de suelo (por triplicado) y en la biomasa generada de la degradación de plásticos (por triplicado).

4- Para el análisis de la mejora de suelo, se prepararon 4 grupos de suelo de prueba, bajo las siguientes condiciones:

Grupo 1: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano.

Grupo 2: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa baja concentración.

Grupo 3: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa mediana concentración.

Grupo 4: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa alta concentración

Todos los grupos se realizaron por triplicado. En los grupos 2, 3 y 4; una vez adicionada la biomasa se homogenizó el suelo antes de la siembra de la semilla. El seguimiento del crecimiento de la plántula se realizó diariamente por cuatro semanas con un vernier y al término se midió el tubérculo.

RESULTADOS

El promedio de los niveles de N₂ encontrados en las muestras de suelo fue de 0.196% y para la biomasa de 0.35%.

En la tabla 1 se muestran los resultados promedio del crecimiento de la plántula de rábano en las semanas de crecimiento.

Tabla 1. Crecimiento promedio por semana de la plántula de rábano.

Semana de crecimiento	Promedio de crecimiento (cm)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
1	1.83	2.83	3.59	0.04
2	5.89	7.36	8.56	1.34
3	6.96	8.54	9.6	2.25
4	9.63	11.81	10.91	2.52

Grupo 1: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano.

Grupo 2: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa baja concentración.

Grupo 3: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa mediana concentración.

Grupo 4: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa alta concentración

En la tabla 2 se muestran los resultados del crecimiento promedio de los tubérculos de rábano.

Tabla 2. Crecimiento promedio del tubérculo de rábano.

Semana de crecimiento	Promedio de crecimiento de rábano (cm)			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
4	2.5	5.5	4	3.8

Grupo 1: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano.

Grupo 2: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa baja concentración.

Grupo 3: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa mediana concentración.

Grupo 4: Maceta con 300 g de suelo + semillas de rábano + biomasa alta concentración

Las imágenes 1 y 2 muestran la comparativa de crecimiento del tubérculo de rábano entre el grupo 1 (control) y el grupo con mayor crecimiento (grupo 2).

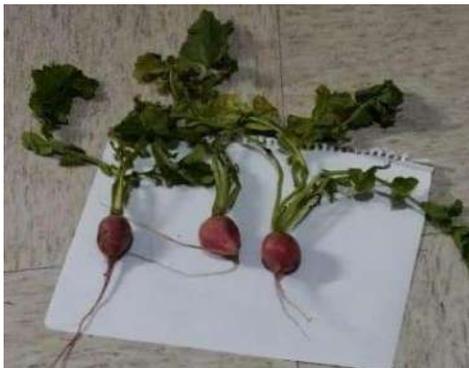


Imagen 1. Tubérculos de rábano del grupo 1.



Imagen 2. Tubérculos de rábano del grupo 2.

CONCLUSIONES

Los niveles de N₂ en la biomasa producto de la degradación de plásticos fue el doble de los niveles encontrados en el suelo empleado como muestra.

El crecimiento de la planta y tubérculo de rábano fue mayor en el grupo 2 de prueba, donde se emplearon niveles medios de biomasa (2.5 g/100 g de suelo).

El incremento en el tamaño fue de 30% y 50% más en la plántula y tubérculo de rábano, respectivamente.

Estos resultados nos llevan a concluir que la biomasa producto de la degradación fisicoquímica-enzimática-microbiológica de plásticos, como el PET y oxo-degradable, es una excelente fuente de nitrógeno para enriquecer el suelo con condiciones no aptas para el cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alarcón Payán D.A (2017). Diseño de nanopartículas de quitosano con actividad peroxidasas para la degradación de contaminantes. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.
2. Alcántara-Trejo L. (2020). Degradación fisicoquímica y microbiológica de plásticos para su reúso en el mejoramiento de suelos. Tesis para obtener el título de ingeniero en biotecnología. Universidad tecnológica de Tecámac.
3. Cedrón J.; Landa V.; Robles J. (2011). Química General: Degradación de los Materiales Plásticos. Material de enseñanza. No.21. Universidad Católica del Perú. <http://corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/contenido/82-polimeros.html> 6.
4. Gómez M. J. (2021). Degradación del polietileno por *actinobacterias*. Tesis para obtener el grado de ciencias. Universidad Javeriana. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/54270/TrabajodeGradoMaJoseGomezOrtiz.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
5. Gutiérrez J. G. (2013). Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcios microbianos. Tesis para obtener el grado de licenciatura en biología. Universidad Nacional Autónoma de México. https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_gutierrez_pescador.pdf
6. Labeaga A. (2018). Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. e-espacio UNED. http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Alabeaga/Labeaga_Viteri_Aitziber_TFM.pdf
7. Muñoz-Inostroza S. C. (2014). Degradación de polímeros de interés industrial utilizando una mezcla de *Pseudomonas aeruginosa*, *Cladosporium sp* y *Alternaria sp*. Tesis para optar al título profesional de Tecnólogo Médico. Universidad Santo Tomás Tecnología Médica, Santiago, Chile.
8. Santillán, M. L. (2018, 27 julio). Una vida de plástico. Ciencia UNAM. Recuperado 1 de junio de 2022, de <https://ciencia.unam.mx/leer/766/una-vida-de-plastico>
9. Secretaria del medio ambiente y recursos naturales. <https://www.gob.mx/semarnat>
10. Diario Oficial de la Federación. <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69255.pdf>

EMPLEANDO LA ESPECTROSCOPIA DE FT-IR Y UV-VISIBLE PARA LA EVALUACIÓN DE LA ELICITACIÓN CON ÁCIDO SALICÍLICO Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN PLANTAS DE MANZANILLA (*Matricaria chamomilla* L.)

Paulina Orozco Barba¹, Xochitl Aparicio Fernández¹, Rosalía Reynoso Camacho², Luis Miguel Salgado Rodríguez³ y Joel de Jesús Barba Franco¹

¹Universidad de Guadalajara; Culagos, ²Universidad Autónoma de Querétaro, ³Centro de Investigación en Ciencias Aplicadas y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional; CICATA

jbarba151292@gmail.com jbarba151292@gmail.com

RESUMEN

La manzanilla es muy utilizada en México para la elaboración de infusiones y utilizada con fines medicinales, debido a su contenido de compuestos bioactivos. Se ha propuesto a la elicitación como una herramienta biotecnológica para mejorar los fitoquímicos en plantas y el ácido salicílico (AS) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) han sido utilizados con este propósito. El objetivo fue evaluar infusiones de manzanilla elicidadas con AS y H₂O₂, utilizando las técnicas no destructivas FT-IR y UV-visible. Flores, tallos y hojas de plantas de manzanilla elicidadas con AS 1.0 y 2.0 mM, H₂O₂ 10 y 20 µM fueron recolectadas 24 y 48 horas después de la elicitación y se prepararon infusiones al 1%. Posteriormente se liofilizaron y se analizaron mediante FTIR-ATR de 400 – 4000 cm⁻¹ y se preparó una dilución 1:4 v: v (infusión/agua), la cual fue evaluada en UV-Vis de 250 - 800 nm. Los datos obtenidos con estas determinaciones se procesaron para obtener los análisis de PCA. Por último, se determinó el color con la absorbancia en el software Colorizer. Los resultados de UV-Vis mostraron picos de absorbancia a 365 , 265 y 251 nm presentes en todas las infusiones de flores. Además, el FTIR-ATR mostro vibraciones a 1740 cm⁻¹ → C=O (t), 3306 cm⁻¹ → -OH (t), 779 cm⁻¹ → C-H meta (d), 786 cm⁻¹ → C-C alcano (d) y 787 cm⁻¹ → N-H (d) como las vibraciones representativas, los cuales se podrían asociar a la presencia de ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y aminoácidos asociados al efecto de elicitación. Adicionalmente, se realizó un análisis multivariado usando la absorbancia en UV-Vis; el análisis evidenció que los tratamientos AS 1.0 mM en flores, hojas y tallo fueron los más significativos, principalmente en plantas recolectadas 24 horas después de la elicitación. Ninguno de los resultados a 48 h de corte evidenció cambios significativos. Los resultados de FT-IR confirman cambios en las infusiones provenientes de plantas elicidadas con los tratamientos de AS 1.0 mM a las 24 y 48 horas en flores y tallos, comparadas con el control. Los tratamientos de H₂O₂ 10 y 20 µM fueron diferentes respecto al control a las 24 horas en flores y tallos; sin embargo, a las 48 horas no se lograron separar respecto al control. En el análisis de color, los valores en la coordenada “b” fueron mayores en las infusiones del AS 1.0 mM. Se concluye que las diferencias en los análisis de FTIR, UV-Vis y color evidencian un claro efecto de la elicitación con AS y H₂O₂ en manzanilla. Sin embargo, estas técnicas no permiten identificar diferencias particulares en los metabolitos modificados por los tratamientos; por lo que evaluar con técnicas como HPLC y la cuantificación total de metabolitos puede complementar la información.

INTRODUCCIÓN

En México, el uso de hierbas con propiedades medicinales es muy antiguo y hasta nuestros días sigue siendo una práctica común. De acuerdo con cifras de la Secretaría de Salud, al menos el 90 % de la población usa plantas medicinales con algún fin terapéutico; esto sin mencionar su uso en la industria alimentaria. En el caso de manzanilla se estima que representa el 7 % del mercado nacional en plantas medicinales (819.63 toneladas anuales), y el 45 % del mercado nacional de

exportación en plantas medicinales, lo que genera un ingreso anual de más de 68 millones de dólares a los productores de esta especie vegetal. Las infusiones de *M. chamomilla* L. son la manera más representativa de uso de esta planta, debido a las propiedades funcionales asociadas; por ejemplo, antimicrobianas, antioxidantes, sedante, tónica, carminativa, antiespasmódica y antiséptica, que derivan de diferentes fitoquímicos con actividad biológica. Existe evidencia de la presencia de hasta 120 compuestos secundarios (fitoquímicos), principalmente terpenos, como óxidos de bisabolol y chamazuleno, y compuestos fenólicos como apigenina y herniarina.

Sin embargo, el efecto funcional de las infusiones esta estrechamente relacionado con la concentración y diversidad de los metabolitos secundarios presentes en estas, el cual normalmente es bajo (< 1 % en peso); aunado a ello condiciones externas como son el origen del material vegetal, el procesamiento de empaquetado, el contenido de tallos, flores y hojas, el envejecimiento de la infusión etc., merman la presencia de los fitoquímicos en las infusiones de manzanilla. Por lo anterior, surge la necesidad de desarrollar métodos de inducción para la síntesis de metabolitos con actividad biológica por la planta, en la búsqueda de beneficiar la explotación de sus propiedades farmacológicas.

La elicitación química es una herramienta biotecnológica que ha resultado efectiva para incrementar el contenido fitoquímico y antioxidante de las plantas medicinales y aromáticas. No obstante, es necesario definir un diseño experimental adecuado y evaluar la concentración del elicitador correspondiente con el fin de optimizar el impacto de la elicitación sobre el contenido de fitoquímicos biológicamente activos en las plantas. Esto puede ser un proceso costoso, por el uso de técnicas destructivas y poco accesibles como HPLC y RMN.

Por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar en infusiones el contenido de compuestos fenólicos empleando técnicas no destructivas como FT-IR y UV-visible para evaluar el efecto de la elicitación de plantas de manzanilla de flores, tallos y hojas con AS 1.0 y 2.0 mM, H₂O₂ 10 y 20 µM y recolectadas a las 24 y 48 horas después de la elicitación.

TEORÍA

El uso de plantas aromáticas y medicinales ha tomado gran relevancia en los últimos años a nivel mundial, esto por su factible por su aplicación como materia prima para fármacos, y empleo directo con fines terapéuticos (González-López, 2012). De acuerdo con cifras de la Secretaría de Salud, al menos el 90 % de la población utiliza plantas medicinales con algún fin curativo al menos una vez en la vida; esto sin mencionar su uso en la industria alimentaria. En este sentido, manzanilla ocupa un lugar importante, debido a que se estima que representa el 7 % del mercado nacional en plantas medicinales (819.63 toneladas anuales), y el 45 % del mercado nacional de exportación en plantas medicinales, lo que genera un ingreso anual de más de 68 millones de dólares a los productores de esta especie vegetal (FAO, 2021).

M. chamomilla L., denominada comúnmente "manzanilla"; como ya se menciona es una de las plantas medicinales más importantes en la medicina tradicional; se cree que es originaria de Europa y del Oeste de Asia. La manzanilla puede crecer en una gran diversidad de climas (cálidos, semicálidos, semisecos y templados), y desde los 200 y hasta los 2750 msnm (Rubio, 1992). Debido a lo anterior, su distribución es a nivel mundial, con excepción de la Antártida, pero es especialmente diversa en regiones tales como América del Norte, este de Brasil, el sur de África y la región mediterránea. En México existe registro de la presencia de esta planta en varios estados como Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Sinaloa, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Moreira *et al.*, 2019; CONABIO, 2020). Se consume principalmente en forma de infusiones, estas son preparadas

con una molienda de flores, tallo y hojas de la planta, la cual suele venderse de manera comercial en sobrecitos de preparación rápida (Milla-Escobar, 2008). Sin embargo, el contenido y tipo de los metabolitos en esta especie suele estudiarse únicamente en extractos de las flores, cuyos rendimientos son variables (0.2 % a 1.9 % m/m). Esta variabilidad es dependiente de diversos factores como el tipo de extracción empleada (extracto alcohólico, hidroalcohólico o aceite esencial), el tipo de materia vegetal utilizado (cabezuelas frescas o desecadas), el origen de siembra de la planta y cuidado por parte de los agricultores (Muñoz-Velázquez *et al.*, 2012; Torrenegra *et al.*, 2017).

Se han logrado identificar cerca de 120 metabolitos secundarios en las flores de manzanilla, entre los principales se encuentran 38 terpenos y 30 compuestos fenólicos como los componentes principales; también destaca la presencia de algunos otros compuestos primario como sacáridos, ácidos grasos y aminoácidos (Raal *et al.*, 2003; Grejtovský *et al.*, 2006; Sing *et al.*, 2011). Los terpenos mayoritarios en las flores de manzanilla, son los óxidos de bisabolol (78 % en el aceite esencial) y los azúlenos, siendo el más representativo el chamazuleno (1-15 % aceite esencial) (Homami *et al.*, 2016). En cuanto a los compuestos fenólicos se han reportado cantidades desde 26 a 37.5 mg/g PS (peso en seco), en muestras de flores de manzanilla, entre los cuales se encontraron ácidos fenólicos, cumarinas y flavonoides. Los flavonoides son el grupo más abundante, se presentan cantidades desde 15 a 21 mg/g. Por su parte, los ácidos fenólicos se suelen encontrar en cantidades 9 a 17 mg/g PS. Es importante mencionar que la apigenina (flavonoide) es el compuesto fenólico con mayor presencia en flores, ya que se han cuantificado hasta 10 mg/g PS de este compuesto (Talavera, 2015). Específicamente en infusiones de manzanilla solo existe un reporte en la literatura, donde Muñoz-Velázquez *et al.* (2012) evaluaron 4 infusiones comerciales de manzanilla en las que encontraron $65.11 \pm 3.5 \mu\text{g eq. AG/mL}$ y $50.84 \pm 7.6 \mu\text{g eq (+)-catequina/mL}$. Sin embargo, como se mencionó la presencia de los metabolitos es afectada por diferentes condiciones (físicas, biológicas, etc.), que merman la actividad medicinal de las infusiones de manzanilla, por lo que favorecer la síntesis de los mismos es de suma importancia.

La palabra elicitor surge de las relaciones establecidas entre planta-patógeno y la estimulación de rutas del metabolismo secundario vegetal deriva del hecho de que muchas plantas, en respuesta a un ataque microbiano o al daño químico y mecánico, sintetizan sustancias tóxicas de índole química conocidas como fitoalexinas. La aplicación de un elicitor en la planta, activa el metabolismo de la planta y esto produce más resistencia para posteriores ataques que puedan generar estrés (Zhao *et al.*, 2005). En la literatura existen estudios de los efectos de elicitors químicos, como jasmonato de metilo (JM), ácido cítrico, KNO_3 , CuCl_2 , y ácido salicílico, para la mejora del contenido de compuestos fenólicos en manzanilla. Por ejemplo, Kyriakos *et al.*, (2020) estudiaron el efecto del estrés abiótico con nitrógeno (KNO_3) en la concentración aceites esenciales, encontrando que a concentraciones más alta de KNO_3 (160 kg ha^{-1}) se mejoró el contenido de aceites esenciales en un 27 %. Sajko *et al.* (2018), observaron que al combinar KNO_3 y etileno de etefón incrementa la producción de metabolitos secundarios en el aceite esencial, como chamzuleno y óxidos de bisabololeno en manzanilla. Respecto al ácido salicílico (AS), existen algunos estudios de elicitación química en manzanilla. Eliasova *et al.* (2004), evaluaron una concentración de 2 mM AS y encontraron un incremento de herniarina a las 72 h después de su aplicación. Kovacik *et al.* (2009), encontraron que plantas de manzanilla de cuatro semanas de edad transplantadas a soluciones Hoagland enriquecidas con AS a diferentes concentraciones (50-250 μM), tuvieron una mejoría en la biomasa de la planta a concentraciones de 50 μM ; y un aumento de 11 compuestos fenólicos, incluyendo herniarina y umbeliferona, para la concentración de 250 μM .

Para determinar el efecto de la elicitación sobre las diferentes partes de planta de manzanilla, en este proyecto se planteó evaluar el efecto del AS y H_2O_2 , estos fueron asperjados durante el cultivo y posteriormente utilizado para preparar infusiones al 1%. En dichas infusiones se evaluó el contenido de compuestos utilizar técnicas no destructivas como FT-IR y UV-visible.

PARTE EXPERIMENTAL

Plantas elicidadas con AS (1.0 y 2.0 mM), H₂O₂ (10 y 20 μM) y control (agua destilada) fueron obtenidas del proyecto de Barba-Franco (2022) y se prepararon infusiones al 1% de flores, tallos y hojas, posteriormente las infusiones fueron liofilizadas (Telstar, LyoQuest-55 plus).

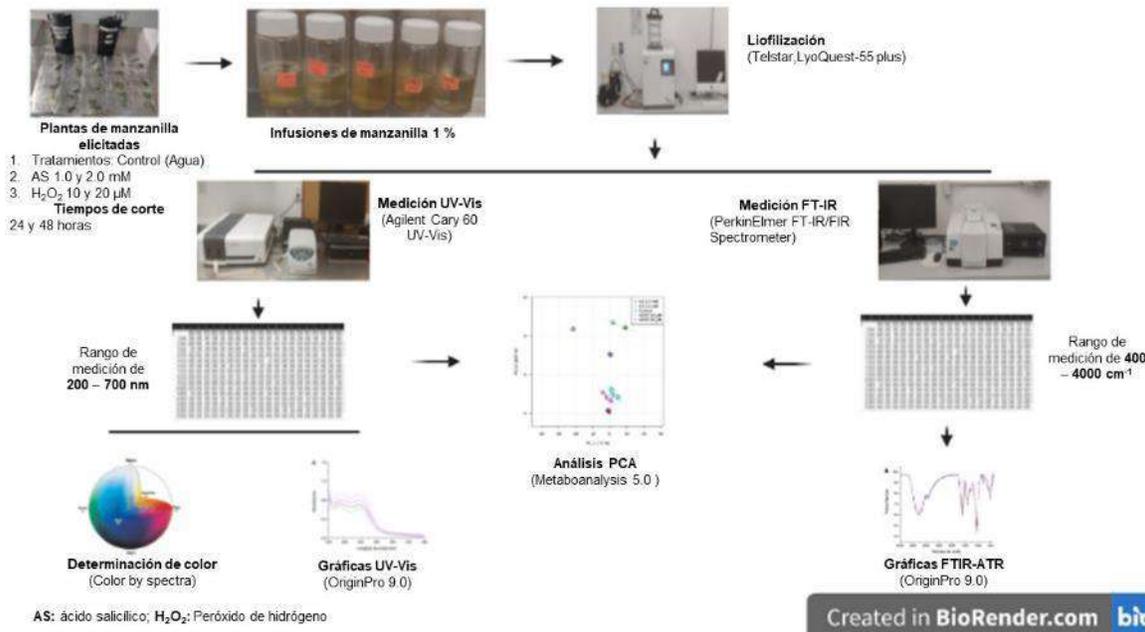


Figura 4. Diagrama experimental utilizado para el desarrollo de este proyecto.

El FTIR-ATR (PerkinElmer FT-IR/FIR Spectrometer) fue medido en el rango de 400 a 4000 cm⁻¹; además, una dilución 1:4 v: v (infusión/agua) fue evaluada en UV-Vis (Agilent Cary 60 UV-Vis) de 250 - 800 nm. Posteriormente los datos fueron graficados en el software “Origin pro 9” en el cual fueron determinados los picos máximos de absorbancia, asimismo la absorbancia fue utilizada para calcular las coordenadas de color en el software “Color by spectra” (Figura 1).

Todos los análisis se hicieron por triplicado y los datos obtenidos con estas determinaciones se procesaron en el software Metaboanalysis 5.0 para obtener los análisis de PCA.

RESULTADOS

Los espectros UV-Vis obtenidos de las infusiones de flores de manzanilla cosechadas a las 24 (Figura 2-A) y 48 (Figura 2-B) horas posteriores al tratamiento de elicitación, mostraron tres bandas de transiciones en las longitudes de onda de 335, 265 y 251 nanómetros (nm); siendo la banda λ=265 la que corresponde a la transición principal de tipo π→π*, es decir; correspondiente a los dobles enlaces presentes en las moléculas de las infusiones analizadas. De acuerdo a la literatura metabolitos como los flavonoides y compuesto fenólicos, presentan de manera común 2 bandas representativas en el espectro UV-Vis. La primera en la región aproximada de 320 – 390 nm y la segunda con λ= 240 y 290 (Robbins, 2003; Sakakibara *et al.*, 2003). Considerando lo anterior, esto es acorde con la naturaleza polar del agua utilizada para realizar la infusión que permite la extracción de moléculas polares como los compuestos fenólicos.

Por su parte, los espectros UV-Vis de las infusiones de tallos y hojas de manzanilla cosechadas a las 24 (Figura 2-C) y 48 (Figura 2-D) horas posteriores a la última aplicación del AS y H₂O₂, mostraron bandas en la región de 335, 265 nm. En este caso la transición electrónica principal es la banda en $\lambda_{max}=335$ nm, la cual podría asociarse a transiciones electrónicas de pares libres de electrones, es decir electrones $n \rightarrow \pi^*$, por lo tanto, en estas infusiones predominan los ácidos fenólicos simples, con pocas conjugaciones en sus anillos aromáticos (Dominguez, 1985; Martínez-Cruz, 2006).

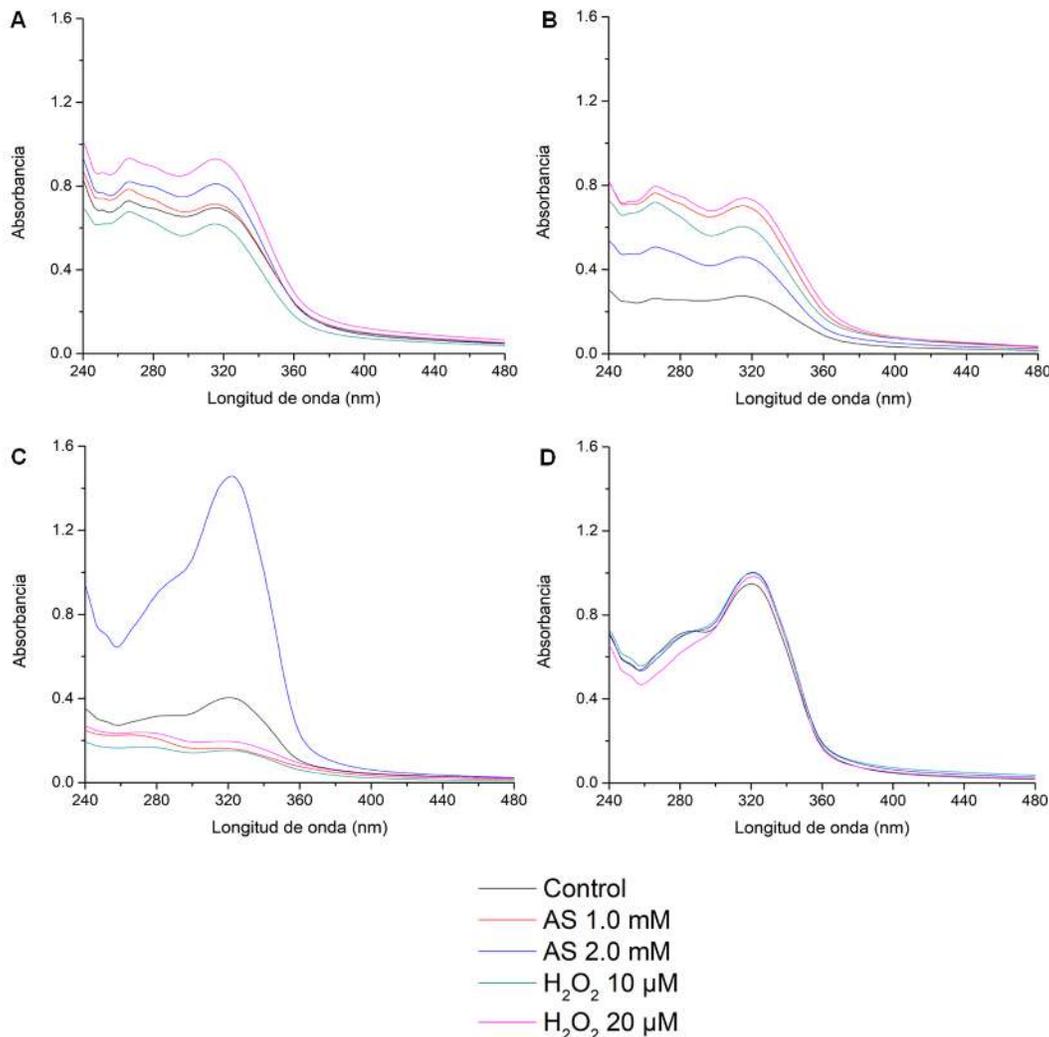


Figura 5. Espectros UV-Vis de infusiones al 1% (dilución 1:4 v/v en agua) de plantas de manzanilla elicitadas con AS (1.0 y 2.0 mM) y H₂O₂ (10 y 20 μM); (A) Flores 24 h, (B) Flores 48 h, (C) Tallos y hojas 24 h y (D) Tallos y hojas 48 h.

Los resultados obtenidos mediante el análisis multivariado (PCA) para las muestras de flores de 24 horas, muestran 4 grupos de muestras, siendo el tratamiento H₂O₂ 10 μM de mayor separación respecto al control; lo cual confirma un efecto de la elicitación, que podría deberse a una disminución en los compuestos fitoquímicos por la menor absorbancia encontrada en el UV-Vis (Figura 3-A). Por su parte, los tratamientos de AS 1.0 y 2.0 mM que se agrupan al centro de la gráfica, además el UV-Vis (Figura 2-A) confirma una mayor concentración debido a la mayor absorbancia obtenida para

estas muestras, por su parte el tratamiento H₂O₂ 20 µM tiene intersección con el control, lo que sugiere que que no hay un efecto por el tratamiento. En el caso de las muestras de flores colectadas a las 48 horas todos los tratamientos están separados de acuerdo al PCA (Figura 3-B). Estos resultados sugieren un incremento en la presencia de metabolitos secundarios debido a que todos los tratamientos tuvieron mayor intensidad respecto al control.

Además, los análisis PCA obtenidos a partir de las absorbancias de las muestras de tallos y hojas de 24 horas, evidenciaron una separación de todos los tratamientos (Figura 3-C). De acuerdo a los resultados de absorbancia el tratamiento AS 2.0 mM mejoro el contenido fitoquímico en la infusión respecto al control. En el caso de la muestra de tallos y hojas de 48 horas de la elicitación, todos los tratamientos se separaron (Figura 3-D), sin embargo, el espectro UV-Vis, muestra absorbancias parecidas para todas las muestras (Figura 2-D).

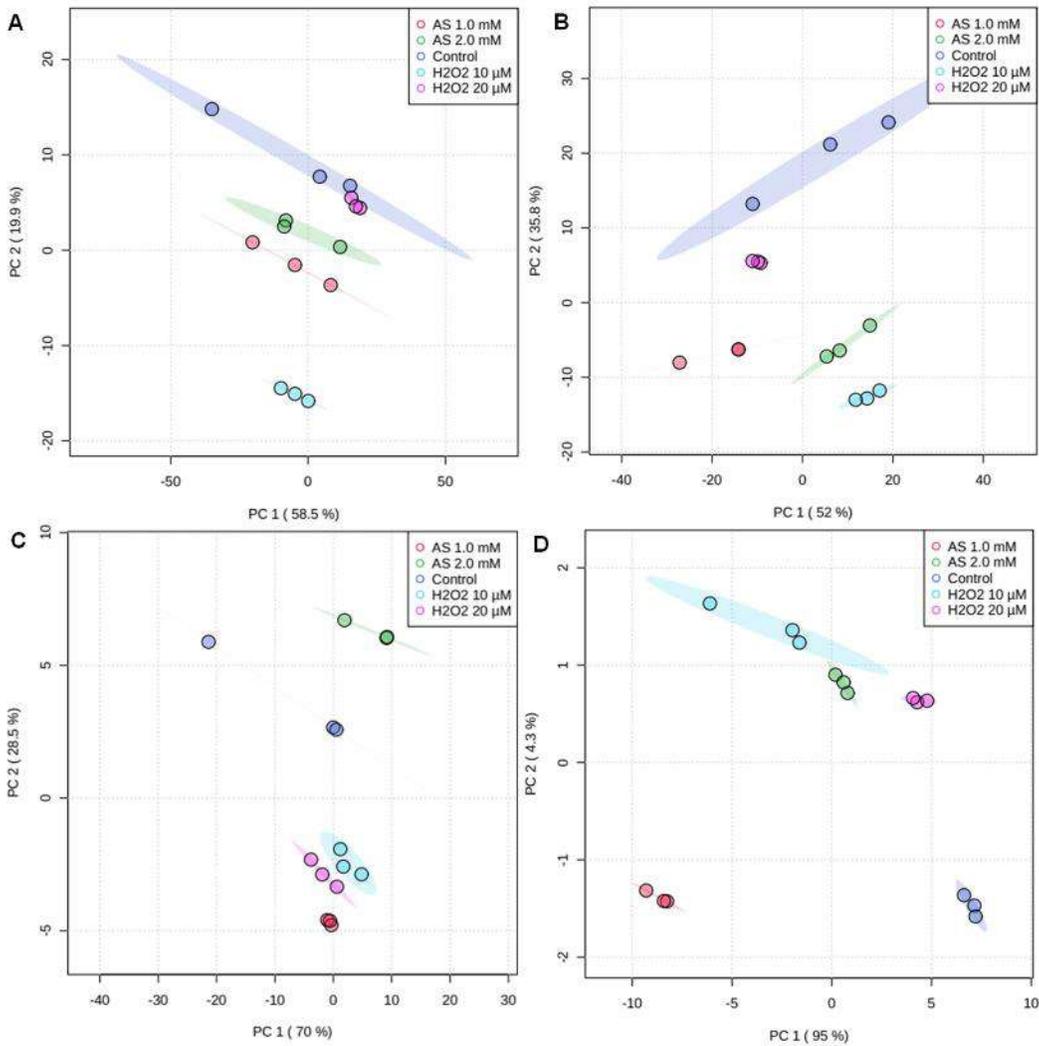


Figura 6. Análisis de principales componentes (PCA) de los resultados obtenido para la matriz de datos de la espectroscopia UV-Vis.

Los espectros FTIR-ATR muestran picos de mayor importancia en las muestras de flor 24h y 48h en los números de onda 3285, 1596, 1262, 1060 cm^{-1} , estos picos muestran la presencia de fenoles en el número de onda 3285 cm^{-1} , el pico fuerte en 1596 cm^{-1} que se debe a la presencia de ésteres, el pico fuerte en 1060 evidencia la presencia de alcoholes primarios y el pico en el número de onda de 1262 cm^{-1} que se debe a moléculas de alcoholes con anillos aromáticos, debido a esto podemos inferir la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos. Por otro lado, las muestras de tallo y hoja a 24h y 48h presentan sus picos de mayor importancia en los números de onda de 1707, 3273 y 1079 cm^{-1} , el pico mediano en 2273 cm^{-1} es debido a fenoles, en 1707 cm^{-1} muestra la presencia de ácidos carboxílicos y en 1079 cm^{-1} por la presencia de alcoholes, se puede deber a la presencia de compuestos fenólicos (Figura 4).

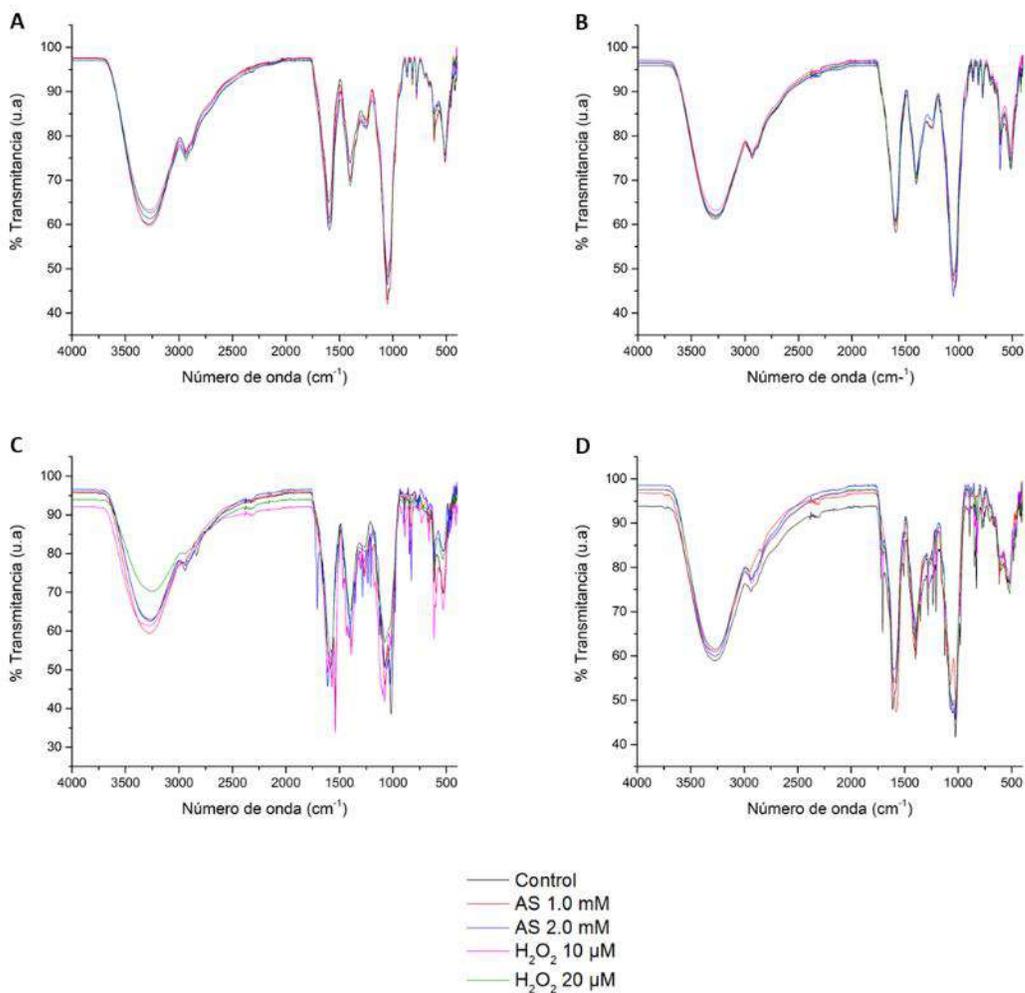


Figura 4. Espectros FT-IR de muestras liofilizadas de infusiones al 1% de manzanilla elicidadas con AS (1.0 y 2.0 mM) y H₂O₂ (10 y 20 μM); (A) Flores 24 h, (B) Flores 48 h, (C) Tallos y hojas 24 h y (D) Tallos y hojas 48 h.

Por su parte de acuerdo con el PCA, los resultados FTIR-ATR confirman un efecto debido a la elicitación ya que se observa una separación de todos los tratamientos en las muestras de flores a las 24h (Figura 5-A) mientras que en cuanto a las flores 48h (Figura 5-B) no hay una separación del tratamiento AS 1.0 mM y los tratamientos de AS 2.0 mM y H₂O₂ 10 y 20 μM se han separado respecto al control, en las muestras de tallo y hoja 24h (Figura 5-C) solo los datos de H₂O₂ 20 μM no se separan del control y en las muestras de 48h (Figura 5-D) solo los datos de AS 1.0 mM se han separado del grupo control.

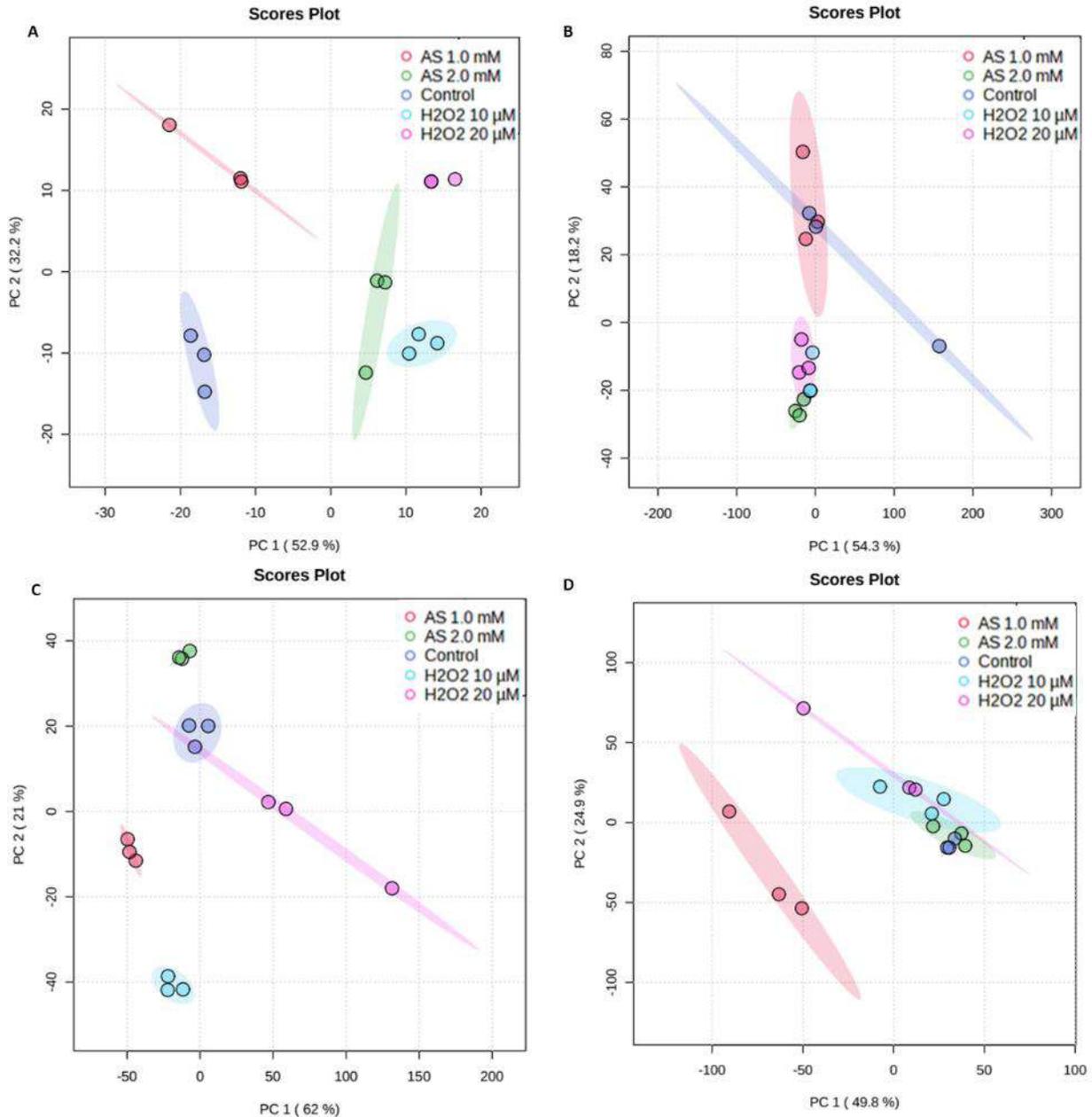


Figura 5. Análisis de componentes principales (PCA) de los resultados obtenido para la matriz de datos de la espectroscopia FTIR-ATR.

Por otro lado, el color de una infusión depende del tipo y contenido de los metabolitos presentes en la materia vegetal, por lo que las diferencias del color de las mismas dependerán de variación del contenido de los metabolitos presentes, principalmente aquellos que tienen conjugaciones electrónicas capaces de emitir en la región del espectro electromagnético visible (Marcos *et al.*, 2014). Con base a la premisa anterior se determinó el color de las infusiones de flores, tallos y hojas de las plantas de manzanilla elicidadas.

Para el color de las infusiones obtenidas de flores, se pueden notar que las infusiones elicidadas con AS 1.0 mM y H₂O₂ 20 µM presentaron una coloración más amarilla (CIE b*) color característico de la infusión de manzanilla (Tabla 1).

Tabla 10. Valores obtenidos para las mediciones para el color (CIELAB) de infusiones al 1 % (m/v), de flores elicidadas y control de manzanilla.

Tiempo de corte	Tratamiento	CIE L*	CIE a*	CIE b*	CIE c*	CIE h*
24 horas	Control	97.35	0.44	5.08	5.10	85.00
	1.0 mM AS	97.03	0.35	5.71	5.72	86.52
	2.0 mM AS	96.68	-3.43	4.52	5.68	127.20
	10 µM H ₂ O ₂	97.75	-0.53	4.27	4.30	97.06
	20 µM H ₂ O ₂	96.43	0.47	6.81	6.83	86.08
48 horas	Control	99.11	-0.60	2.51	2.58	103.47
	1.0 mM AS	98.28	-0.61	4.50	4.54	97.70
	2.0 mM AS	97.87	-3.88	2.02	4.38	152.48
	10 µM H ₂ O ₂	97.93	-0.71	4.34	4.39	99.26
	20 µM H ₂ O ₂	98.21	-1.01	5.11	5.21	101.22

El color de las infusiones obtenidas de tallos y hojas muestran valores de luminosidad superiores el 97 % siendo el tratamiento AS 1.0 mM a las 48h y el menor. Además, para la coordenada “CIE b” la cual predice el color amarillo característico de las infusiones de manzanilla obtenidas de tallos, el tratamiento AS 1.0 mM, presentó los valores más altos, es decir más amarillas (Tabla 2).

Tabla 11. Valores obtenidos para las mediciones para el color (CIELAB) de infusiones al 1 % (m/v), de tallo y hojas elicidadas y control de manzanilla.

Tiempo de corte	Tratamiento	CIE L*	CIE a*	CIE b*	CIE c*	CIE h*
24 horas	Control	99.16	-0.74	2.83	2.93	104.66
	1.0 mM AS	98.71	-0.75	3.60	3.68	101.81
	2.0 mM AS	99.12	-0.74	2.75	2.85	105.09
	10 μ M H ₂ O ₂	99.11	-0.64	2.33	2.42	105.43
	20 μ M H ₂ O ₂	99.39	-0.73	2.47	2.58	106.40
48 horas	Control	97.31	-0.70	3.69	3.75	100.68
	1.0 mM AS	97.65	-0.64	2.82	2.89	102.79
	2.0 mM AS	97.81	-0.63	2.48	2.56	104.35
	10 μ M H ₂ O ₂	98.675	-0.67	2.30	2.39	106.18
	20 μ M H ₂ O ₂	98.022	-0.64	2.30	2.39	105.49

Si bien las técnicas espectroscópicas como son UV-Visible y FTIR-ATR no permiten especificar qué compuestos están presentes en las infusiones (muestras), sí ayudan a inferir sobre los compuestos a identificar en el estudio metabolómico. Aunado a un análisis integral de los métodos utilizados experimentalmente se puede proponer el efecto logrado con la elicitación. Con base en lo anterior se puede sugerir que las muestras de flores (infusiones) tenían una mayor presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, debido a la naturaleza polar de la infusión (agua) que favorece la presencia de estos metabolitos; así como las 2 bandas representativas en el espectro UV-Vis, ($\lambda = 335$ nm y $\lambda = 265$ nm) y las vibraciones observadas en el FTIR-ATR (1596 cm^{-1} , 3285 cm^{-1} , 1262 cm^{-1} y 1060 cm^{-1}).

Respecto a las muestras de tallos y hojas, se logró observar que las transiciones electrónicas principales fueron las bandas en $\lambda = 335$ nm y de manera integral en el FTIR-ATR las principales vibraciones (3273 cm^{-1} , 1079 cm^{-1} y 1707 cm^{-1}) sugieren que las moléculas mayoritarias fueron ácidos fenólicos. Estos resultados son acordes a algunos reportes en la literatura, por ejemplo, Eliasova *et al.* (2004), encontraron que el AS asperjado a una concentración de 2 mM en plantas de manzanilla provocó mayor presencia de herniarina a las 72 h después de su aplicación. Kovacik *et al.* (2009), encontraron que plantas de manzanilla de cuatro semanas de edad trasplantadas a soluciones Hoagland enriquecidas con AS a diferentes concentraciones (50-250 μ M), tuvieron una mejoría en la biomasa de la planta a concentraciones de 50 μ M. Un aumento de 11 compuestos fenólicos, incluyendo herniarina y umbeliferona, para la concentración de 250 μ M, no obstante, esto no se había demostrado en las infusiones de manzanilla. En el caso de la elicitación con peróxido de hidrógeno no existe evidencia científica de su efecto, específicamente en plantas de manzanilla; sin embargo, existe certidumbre bibliográfica que muestra la capacidad del peróxido de hidrogeno para incrementar compuestos fenólicos en frijol común (Mendoza-Sánchez *et al.*, 2016) y *Fagopyrum esculentum* (Świeca, 2016). Por último, es importante mencionar que el presente estudio señala que las técnicas espectroscópicas, no destructivas como UV-Vis y FTIR-ATR, pueden ser una herramienta esencial al momento de tomar decisiones sobre las estrategias a seguir en un estudio

metabolómico, sin embargo, es conveniente corroborar los resultados relevantes con técnicas más específicas como HPLC y ensayos de bioactividad.

CONCLUSIONES

Este trabajo demostró que la elicitación con AS y H₂O₂ en plantas de manzanilla puede mejorar el contenido fitoquímico de sus infusiones a través de los cambios observados con las espectroscopias utilizadas. Sin embargo, estas técnicas no permiten identificar diferencias particulares en los fitoquímicos modificados por los tratamientos; por lo que, se requieren técnicas más específicas como las cromatografías para identificar dichos metabolitos.

BIBLIOGRAFÍA

A. González-López, "Aceite de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) y su potencial de producción sustentable para uso medicinal". Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria, Torreón, México 2012.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO, 2021, Disponible en: <https://www.fao.org/home/es> Acesoado el 10/11/22.

M. S. Rubio, "Cultivo, industrialización y comercialización de la manzanilla (*Matricaria recutita* L.)", Anales de SAIPA, Vol. 9 (10), 1992, pp. 154 – 173.

P. O. Moreira, H. Cabrera, R. Armijos y A. A. Cueva, A, "Germinación y multiplicación in vitro de *Matricaria recutita* L., los fenoles totales determinan su germinación", Revista Colombiana de Biotecnología. Vol. 21 (2), 2019, pp. 6 – 11.

CONABIO, 2020. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad, *Matricaria recutita* L., (CONABIO) Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/matricaria_recutita/fichas/pagina1.htm Acesoado el 15/03/23.

K. J. Milla-Escobar,(2008), "La manzanilla: una forma de consumo global", Revista de Ciencias Sociales de la Universidad Iberoamericana. 6 (3), 37-57

E. E. Muñoz-Velázquez, D.K. Rivas, Ma. G. F. Loarca-Piña, S. Mendoza-Díaz, R. Reynoso-Camacho y M Ramos-Gómez, "Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales", Revista Mexicana de Ciencias agrícolas. Vol. 3 (3), 2012, pp. 481-495.

M. E. Torrenegra-Alarcón, C. Granados-Conde, N. P. Pajaro, G. León-Méndez, C. N. Tejada-Tovar, "Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* L.", Revista Cubana de Farmacia, Vol. 51 (1), 2017. <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/rt/printerFriendly/195/156> (accesoado el: 12/10/2020).

A. Raal, E. Arak, A. Orav y K. Ivas, "Comparison of essential oil content of *Matricaria recutita* L. from different origins", Ars Pharmaceutica Journal, Vol. 44 (2), 2003, pp. 159-165.

A. Grejtovský, K. Markusová y A. Eliasová, (2006), "The response of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) plants to soil zinc supply, Plant, Soil and Environment. Vol. 52 (1), 2006, pp. 1–7.

- O. Singh, Z. Khanam N. Misra y M. Kumar-Srivastava, (2011), "Chamomille (*Matricaria chamomilla* L.) an overview. Pharmacognosy review, Vol. 5 (9), 2011, pp. 82-96.
- S. S. Homami, K. Jaimand, M. B. Rezaee y R. Afzalzadeh, (2016), "Comparative studies of different extraction methods of essential oil from *Matricaria recutita* L. in Iran", Journal of the Chilean Chemical Society, Vol. 61 (2), 2016, pp. 2982 – 2984.
- M. J. Talavera-Apaza, "Efecto antibacteriano sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC®25175) y el perfil de compuestos fenólicos de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) cultivada en Puno", Revista de Investigación Altoandina. Vol. 17 (2), 2015, pp. 173– 82.
- J. Zhao, L. C. Davis y R. Verpoorte, "Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites", Biotechnology advances Vol. 23, 2005, pp. 283-333.
- D. G. Kyriakos, C. A. Kavoukou, N. Gougoulas y E. Wogiatzi, E., (2020), "*Matricaria chamomilla* L. (German chamomile) flower yield and essential oil affected by irrigation and nitrogen fertilization", Emirates Journal of Food and Agriculture, Vol. 32 (5), 2020, pp. 328-335.
- M. Sajko, D. Z. Kovalpiková, B. P. Palove y M. Repcak, "Physiological responses of *Matricaria chamomilla* to Potassium Nitrate supply and foliar application of Ethephon", Journal of Plant Growth Regulation. Vol. 37 (1), 2018, pp. 360-369.
- A. Eliasova, M. Repcak y A. Pastírová, "Quantitative Changes of Secondary Metabolites of *Matricaria chamomilla* by Abiotic Stress", Zeitschrift für Naturforschung. Vol. 59, 2004, pp. 543-548.
- J. Kovacik, J. Grúz, M. Backor, M. Strnad y M. Repcak, "Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants", Plant Cell Reports., Vol. 28 (1), 2009, pp. 135–143.
- J. J. Barba-Franco, "Características agronómicas de plantas de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) elicidas con ácido salicílico y evaluación del perfil fitoquímico de sus infusiones" 2022, Tesis de Maestría, Universidad de Guadalajara; CULagos, Lagos de Moreno, Jalisco.
- R.J. Robbins "Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology", Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 51, 2003, pp. 2866-2887.
- H. Sakakibara, Y. Honda, S. Nakagawa, H. Ashida y K. Kanazawa "Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits and teas", Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 51, 2003, pp. 571-581.
- X. A. Domínguez, "Métodos de investigación fitoquímica, En: Coumarinas", Editorial Limusa., México, 1985, 111-126.
- N. S. Martínez-Cruz, "Identificación de compuestos fenólicos con posible actividad biológica obtenidos de ciruela (*Prunus cerasifera* Ehrh)" 2006, Tesis de Maestría, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz.
- B. Marcos, C. Sárraga, M. Castellari, F. Kappen, G. Schennink y J. Arnau, "Development of biodegradable films with antioxidant properties based on polyesters containing α -tocopherol and olive leaf extract for food packaging applications". Food Packag. Shelf Life, Vol. 1, 2014, pp. 140– 150.
- M. Mendoza-Sánchez, R. G. Guevara-González, E. Castaño-Tostado, E. M. Mercado-Silva, J. A. Acosta-Gallegos, N. E. Rocha-Guzmán y R. Reynoso-Camacho, "Effect of chemical stress on germination of cv Dalia bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as an alternative to increase antioxidant and nutraceutical compounds in sprouts". Food Chemistry, Vol. 212, 2016, pp. 128–137.

M. Świeca, "Potentially bioaccessible phenolics, antioxidant activity and nutritional quality of young buckwheat sprouts affected by elicitation and elicitation supported by phenylpropanoid pathway precursor feeding". *Food Chemistry*, Vol. 192, 2016, pp. 625–632.

EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS TECNO-FUNCIONALES DE TORTILLA DE MAÍZ Y HARINA DE LEGUMBRE

Karla Montes-Rodríguez¹, Eder Noé Nambo Santiago¹, Liliana Márquez Benavides², Berenice Yahuaca-Juárez³

¹Programa Institucional de Ciencias Biológicas, ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, ³Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

1130587d@umich.mx

RESUMEN

En México, las principales legumbres cultivadas son lenteja (*Lens culinaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*) y haba (*Faba vicia* L.). Tradicionalmente su consumo es en grano cocido, otra alternativa es incluirlos como ingrediente en forma de harina. La incorporación de harina de legumbres a la tortilla de maíz puede ser de interés considerando el incremento en su valor nutricional, ya que particularmente son fuente importante de proteína, entre otros nutrientes. En la actualidad, existe un creciente interés en las legumbres, tanto por su valor nutritivo como por las propiedades tecno-funcionales que presentan sus harinas, constituyendo la base funcional de diversos productos, principalmente los de bajo contenido proteico. Para lograr una utilización óptima de las harinas de legumbres, se deben tener en cuenta las propiedades tecno-funcionales, ya que las modificaciones que durante el procesamiento sufren los componentes de la matriz de estas semillas, pueden a su vez, reflejarse en la calidad tecno-funcional de las harinas. Este estudio pretende avanzar en el conocimiento de las modificaciones que el procesamiento origina en los componentes de las legumbres y en las características tecno-funcionales de las harinas obtenidas a partir de ellas. El objetivo del trabajo fue formular tortillas de maíz con harina de lenteja, garbanzo y haba y determinar su calidad tecno-funcional. Las tortillas se elaboraron con harina de maíz nixtamalizado (95, 90 y 85%) y (5, 10 y 15%) de harina de lenteja, garbanzo y haba. Se evaluó la pérdida de peso en la cocción, porcentaje de humedad, grado de inflado y rolabilidad. Los resultados indican que el garbanzo y el haba presentan un comportamiento similar en los parámetros evaluados, al 5% se observó la mayor pérdida de peso en la cocción (30 %) y en lenteja fue al 10 % (24 %), correlacionándose significativamente con el porcentaje de humedad. El grado de inflado y rolabilidad no presentaron diferencias significativas entre las formulaciones y en general presentan un grado de inflado intermedio a completo y una rolabilidad con descriptores de rompimiento moderado a sin rompimiento. La formulación al 15 % en lenteja y garbanzo presentó la mayor calidad tecno-funcional, razón por la cual pueden ser considerados como ingredientes idóneos para su incorporación en la tortilla de maíz. Los resultados que derivan de esta investigación son de utilidad para que el consumidor disponga de información sobre los beneficios de incluir estas harinas en la dieta habitual.

INTRODUCCIÓN

En México, el maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia debido a la superficie sembrada, el valor de su producción, cultura y tradición. El maíz ha formado parte de la base de la dieta de la población mexicana, es la materia prima básica con que se elabora la tortilla: alimento plano, delgado y redondo, el cual se prefiere consumir fresco debido a su textura suave, determinada principalmente por la calidad tecno-funcional lo que permite enrollarla, doblarla sin romperse y rellenarla con otro tipo de alimentos. La tortilla de maíz por si sola provee aproximadamente el 45.2 % de las calorías en la dieta diaria de la población mexicana, aporta el 38.8 % de proteínas, 49.1 % de calcio y es considerada excelente fuente de energía, característica atribuida por su alto contenido

en almidón. En referencia al aporte proteico, la tortilla de maíz carece de calidad proteica, las proteínas que la constituyen son deficientes en dos aminoácidos esenciales (lisina y triptófano), por otro lado, su contenido en fibra dietaria es reducido con respecto a otros productos. Por lo anterior, la tortilla al ser un alimento de consumo habitual y generalizado, se han desarrollado estrategias para mejorar su contenido nutrimental, durante su elaboración se incorporan harinas no tradicionales las cuales se caracterizan por ser elaboradas a partir de la deshidratación de legumbres y hortalizas, ricas en nutrientes y compuestos bioactivos.. Se han reportado estudios sobre formulación de tortillas de maíz suplementadas con semilla de chía (*Salvia hispánica L.*), harinas de amaranto y avena.

Además del maíz, otro de los alimentos básicos importantes son las legumbres, un alimento económico y de fácil manejo, representan una importante contribución a la seguridad alimentaria en los países en desarrollo por ser de bajo costo, presentan una gran versatilidad lo que las hace de fácil adquisición para la población en general, su prolongado tiempo de conservación reduce los niveles de desperdicio convirtiéndose en una importante fuente de alimentos para los sectores de bajos recursos. En México la producción de garbanzo en 2022 fue de 187 mil toneladas, el cultivo de lenteja registró 10 mil 113 toneladas en 2021 mientras que la producción de haba sumó 37 mil 578 toneladas en 2021. Las legumbres además son de gran interés por su valor nutritivo, son fuente de proteína (17 a 34%), lípidos (1 a 6%), carbohidratos complejos (50 a 60%), fibra (9 a 21%), minerales (3 a 4%), vitaminas hidrosolubles y compuestos fenólicos.

La calidad biológica de las proteínas se mide por diferentes índices entre los que destaca el valor biológico, el cual indica el porcentaje de la proteína absorbida que es retenida por el organismo, el garbanzo presenta un valor biológico de 58 a 68%, el haba 55% y la lenteja 45%, los aminoácidos presentes son lisina, leucina y arginina, siendo deficientes en triptófano, metionina y cisteína. Aun cuando la producción de legumbres continúa, la población ha dejado de consumirlas, entre las razones comunes destaca el ritmo de vida actual, el tiempo que se requiere para la cocción de las legumbres y preparación de diversos platillos para su consumo. En este sentido se ha optado por diversificar los productos, existiendo una tendencia hacia los alimentos de conveniencia y listos para el consumo directo, estimulando el interés en el procesamiento de semillas de legumbres para obtener harinas, entre otros productos. La transformación de legumbres en harinas constituye una alternativa para su utilización ya sea sola o en combinación con otros alimentos en la elaboración de productos tradicionales o en el desarrollo de nuevos productos, además es una forma de incentivar la producción y demanda de estas tanto para consumo directo, así como materia prima.

Considerando lo anteriormente expuesto, la harina de legumbres puede ser utilizada en combinación con la harina de maíz nixtamalizado con el objeto de incrementar el valor nutrimental de la tortilla de maíz, mejorando su calidad proteica. Estudios han demostrado que estos dos tipos de alimentos tienen un efecto complementario, la causa de ello radica en la composición de aminoácidos esenciales de cada componente. Las proteínas del maíz son deficientes en lisina, pero tienen cantidades considerables de aminoácidos que contienen azufre (metionina y cisteína), mientras que las legumbres, son una fuente relativamente abundante de lisina, pero tienen un contenido bajo de aminoácidos azufrados. Para que no exista una deficiencia es posible incorporar proteínas cuya composición de aminoácidos sea complementaria, como por ejemplo la proteína de legumbres. En este sentido, la tortilla de maíz es una matriz alimentaria considerada un vehículo ideal para adicionar diferentes ingredientes como las harinas de legumbre. Sin embargo, es importante considerar que si bien la incorporación de harina de legumbre en el sistema puede mejorar la calidad nutricional de la tortilla de maíz puede también incidir en su calidad tecno-funcional. La tecno-funcionalidad está determinada por las propiedades físicas y químicas que afectan el comportamiento y características

de los alimentos durante su preparación, procesamiento, almacenaje y consumo, que contribuyen a la calidad final del producto e influyen en atributos de tipo sensorial. Entre estas propiedades destacan en la tortilla: pérdida de peso en la cocción, porcentaje de humedad, rolabilidad y grado de inflado. La pérdida de peso es un parámetro importante en el rendimiento y la textura de las tortillas y está directamente relacionado con el contenido de humedad de la masa, el rendimiento de masa y tortilla dependen básicamente de la capacidad del grano de absorber agua y de retenerla durante las etapas del proceso, particularmente en la tortilla, se pierde una cantidad importante durante la formación de la "ampolla", la cual determina el grado de inflado, siendo la etapa final del proceso de cocción. Esta característica se ve afectada por la proporción de amilosa/amilopeptina del almidón. Un adecuado grado de inflado se obtiene cuando se forman las dos capas en la tortilla. Estas capas producidas durante el proceso de cocción son impermeables, por lo que retienen el vapor para poder lograr el inflado durante el calentamiento. La rolabilidad está asociada con la flexibilidad de las tortillas. Las tortillas frescas son suaves y se enrollan fácilmente, mientras que las tortillas almacenadas son rígidas, quebradizas y se rompen cuando se enrollan, este endurecimiento se debe a la retrogradación del almidón, que se inicia tan pronto la tortilla comienza a enfriarse.

El contenido de humedad en los productos a base de almidón se relaciona con la suavidad de estos, en tanto que su pérdida se asocia con resequedad y endurecimiento. Dichas propiedades de calidad están relacionadas con la textura y dependen particularmente del grado de gelatinización del almidón durante la nixtamalización, presencia de pericarpio, ácidos grasos saponificados, concentración de cal y tiempo de cocción. En comparación, el almidón de las legumbres tiene un mayor contenido de amilosa que de amilopeptina, por lo que es útil para modificar la textura, al actuar como agente espesante. Una de las características principales del almidón de las leguminosas es que su proceso de retrogradación es más lento que los almidones de tubérculos, cereales y almidones modificados. La tortilla al igual que los productos con base en almidón, se endurece durante el almacenamiento, lo que puede disminuir el nivel de agrado, siendo la textura un factor de aceptabilidad sensorial importante para la aprobación de alimentos por parte del consumidor. Las propiedades funcionales del maíz están fuertemente influenciadas por el almidón, a diferencia de las legumbres, que derivan principalmente de las proteínas. Las proteínas de las legumbres confieren propiedades químicas y funcionales al emplearse en diversos alimentos, mejoran sus características sensoriales como sabor, olor, textura y palatabilidad y a la vez juegan un papel importante en la aceptación por parte del consumidor. Las proteínas tienen una relevante participación en la tecno-funcionalidad de una matriz alimentaria, por ejemplo las propiedades de hidratación de las proteínas (absorción y retención de agua) dependen principalmente de la interacción proteína-agua y en la tortilla pudieran relacionarse con su contenido de humedad y pérdida de peso en la cocción, por otra parte, las propiedades que dependen de la interacción proteína-proteína (gelificación, elasticidad, cohesividad, dureza y adhesividad) pudieran participar en el grado de inflado, textura en masa y tortilla.

Finalmente, la tortilla de maíz adicionada con harinas de legumbre como alternativa de mejora nutricional debe mantener su calidad tecno-funcional siendo un rasgo de calidad importante para determinar la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. Son diversos los motivos para desarrollar nuevos productos, entre ellos: exigencias de nuevos sectores de la población y de la industria alimentaria, mejora de aspectos sensoriales (aroma, color, sabor, textura), aspectos nutricionales y de salud que puedan dar al consumidor un beneficio para la salud y una mayor calidad de vida. Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo de investigación fue formular tortillas de maíz con harina de legumbres y determinar su calidad tecno-funcional.

PARTE EXPERIMENTAL

Material.

Harina de maíz.

Se utilizó harina de maíz nixtamalizada comercial (MASECA®). Adquirida en un centro comercial y trasladada al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH hasta su uso.

Harina de legumbre.

Se usaron tres diferentes tipos de legumbre: lenteja (*Lens culinaris*), garbanzo (*Cicer arietinum*) y haba (*Faba vicia* L.), cada legumbre se llevó a cocción en agua (relación 1 a 2) a una temperatura de 94°C. De manera preliminar se determinó el punto óptimo de cocción mediante la prueba de dureza de la legumbre al tacto, concluida la cocción de cada legumbre, se realizó un proceso de secado en un deshidratador a 70°C hasta alcanzar una humedad del 10%. Una vez deshidratadas se molieron en un molino eléctrico Goldenwall®, hasta obtener un tamaño de partícula de 0.25 mm con la finalidad de obtener una harina fina, las harinas fueron empacadas al vacío hasta su uso.

Obtención de tortillas.

Para la elaboración de tortillas se establecieron tres formulaciones: harina de maíz nixtamalizado/harina de legumbre (95/5, 90/10 y 85/15 %). Cada formulación se hidrato con agua purificada a 25 °C y se amasó manualmente hasta crear una masa homogénea y consistente. Se tomaron 20 gr de masa para formar la tortilla utilizando una tortilladora manual, que consistió en presionar la masa entre dos placas metálicas cubiertas de plástico, hasta un espesor de 2-3 mm. Una vez formados los discos de la tortilla se llevaron a cocción en un comal a una temperatura de 200 °C, lado 1 (1 min), lado 2 (1.20 min), lado 1 (hasta inflado).

Propiedades tecno-funcionales.

Capacidad de enrollamiento (rolabilidad).

Para determinar la rolabilidad de la tortilla se realizó la prueba subjetiva utilizando un cilindro de 1.9 cm de diámetro aproximadamente, la tortilla se enrolló en el cilindro ejerciendo tensión y se le asignó una calificación de 1 a la tortilla íntegra sin rompimiento, 2 rompimiento moderado, 3 rompimiento severo. La prueba se llevó a cabo a temperatura ambiente después de 30 min de elaborar la tortilla. (5 tortillas)

Grado de inflado.

Para evaluar el grado de inflado se hicieron tres tortillas y se observó el tamaño de la ampolla que presentó cada tortilla al momento de su elaboración y se asignó una calificación de 1 a la tortilla con un inflado completo, de 2 inflado intermedio, y de 3 sin inflado. (5 tortillas)

Pérdida de peso en la cocción.

Para evaluar la pérdida de peso en la cocción (pp) se elaboraron cinco tortillas y se determinó calculando el porcentaje en peso de material perdido durante el cocimiento, se pesó la tortilla antes de someterla a la cocción y después de cocida (La prueba se llevó a cabo a temperatura ambiente después de 30 min de elaborada la tortilla).

Análisis estadístico.

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía. Se utilizó la prueba Tukey a un nivel de significancia de $P \leq 0.05$ para identificar diferencias significativas en los promedios de los parámetros medidos.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados derivados de la determinación de la capacidad de enrollamiento de las tortillas de maíz sustituidas con 5, 10 y 15 % de harina de legumbre. La capacidad de enrollamiento, cuya medida subjetiva proporciona información sobre la calidad de las tortillas para formar rollos (tacos) sin fragmentarse, indicó que en la incorporación del 5 y 10 % de harina de legumbre, en general, se obtuvieron descriptores de rompimiento moderado a sin rompimiento. Las tortillas de garbanzo y lenteja al 15 % produjeron características deseables respecto a la rolabilidad (valores alrededor de 1) resultando en tortillas íntegras sin rompimiento, mientras que en haba se obtuvo el mayor valor (2.40) relacionado con un descriptor de rompimiento moderado.

Tabla 1. Determinación de la capacidad de enrollamiento de la tortilla de maíz sustituida con 5, 10 y 15 % de harina de legumbre.

FORMULACIÓN TORTILLA	ROLABILIDAD			
	MAÍZ/LEGUMBRE	GARBANZO	HABA	LENTEJA
95/5	1.40 ± 0.54a	1.60 ± 0.89a	1.40 ± 1.09a	
90/10	1.60 ± 0.54a	1.40 ± 0.54a	1.20 ± 0.44a	
85/15	1.20 ± 0.44a	2.40 ± 0.54a	1.20 ± 0.54a	

Medias con letras diferentes difieren significativamente ($P < 0.05$).

Sin embargo, aun cuando los resultados numéricamente presentan diferencias, estadísticamente no se observó una diferencia significativa entre las distintas formulaciones. Estudios realizados por

Treviño-Mejía *et al.* (2016) reportaron para la tortilla de maíz un valor de rolabilidad de 1.00 y al adicionar harina de frijol resultó en un valor de 1.38 siendo resultados similares a los obtenidos en la harina de garbanzo, haba y lenteja del presente estudio. Por otro lado, en tortilla de maíz adicionada con 5, 10 y 15 % de harina de nopal los valores reportados son semejantes. La incorporación de harina de legumbre hasta un 15% no altera las propiedades de rolabilidad de la tortilla presentando una textura suave y poco quebradiza.

En cuanto al grado de inflado o formación de ampolla en las tortillas evaluadas (Tabla 2), estas presentaron valores similares en garbanzo y lenteja (1.40, 1.60, 1.20, 1.80, 1.20 y 1.00 respectivamente), con un grado de inflado completo, definido como no rotura, mientras que las formulaciones de tortillas adicionadas con haba obtuvieron valores significativamente más altos (2.40 y 2.20), observando un inflado intermedio. El grado de inflado no se ve afectado en general con la adición de harina de garbanzo y lenteja particularmente, siendo una característica deseable en la calidad de las tortillas al presentar un valor cercano a 1, particularmente dichos valores se aprecian aun en las tortillas adicionadas al 15 %.

Tabla 2. Determinación del grado de inflado de la tortilla de maíz sustituida con 5, 10 y 15 % de harina de legumbre.

FORMULACIÓN TORTILLA	GRADO DE INFLADO			
	MAÍZ/LEGUMBRE	GARBANZO	HABA	LENTEJA
95/5	1.40 ± 0.54ab	2.40 ± 0.54a	1.80 ± 0.83ab	
90/10	1.60 ± 0.54ab	2.40 ± 0.00a	1.20 ± 0.44b	
85/15	1.20 ± 0.44b	2.20 ± 0.54a	1.00 ± 0.00b	

Medias con letras diferentes difieren significativamente (P<0.05).

Los resultados en el grado de inflado de las tortillas presentan concordancia con los descritos por Treviño-Mejía *et al.* (2016), para la tortilla de maíz indicaron valores de grado de inflado de 1.66 y 1.70 para las tortillas con harina de frijol, resultados comparativamente semejantes con la tortilla de garbanzo y lenteja aquí analizados. Chávez González (2015) reportó en tortilla de maíz valores semejantes a la tortilla adicionada con haba (2.00), y en tortillas adicionadas con harina de nopal valores cercanos a 1 como los informados en lenteja y garbanzo.

Finalmente, en la Tabla 3 se presentan los resultados referentes a la pérdida de peso por cocción en la tortilla de maíz adicionada con legumbres. En las tortillas adicionadas al 5 % con haba y garbanzo se obtuvo la mayor pérdida de peso (30.93 y 30.90 %), seguido de la tortilla al 15 % de haba (27.81 %) y la tortilla al 10 % de garbanzo (27.41 %), para la tortilla de haba y lenteja al 10% y la tortilla de lenteja al 5% (24.68, 24.58 y 24.00 % respectivamente), estos resultados son similares a los obtenidos por Treviño-Mejía *et al.* (2016) en la tortilla de maíz, reportando un valor de (24.67

%) mientras que para la tortilla con frijol (24.78 %), por su parte Chávez González (2015) obtuvo un resultado similar en tortilla de maíz (23.24 %). Los valores con menor pérdida de peso por cocción fueron los observados en las tortillas de lenteja y garbanzo al 15 % (22.98 y 21.68 %) los cuales se pueden comparar con los informados por Chávez González (2015) en tortilla de maíz adicionada con 15 % de harina de nopal (23.38 %), dichos valores se encontraron cercanos al rango máximo de pérdida de peso durante la cocción ya que se acepta como adecuado al oscilar entre 16 y 20%.

Tabla 3. Pérdida de peso en la cocción de la tortilla de maíz sustituida con 5, 10 y 15 % de harina de legumbre.

FORMULACIÓN TORTILLA	PÉRDIDA DE PESO EN LA COCCIÓN (%)			
	MAÍZ/LEGUMBRE	GARBANZO	HABA	LENTEJA
95/5		30.93 ± 2.01a	30.90 ± 0.89a	24.00 ± 0.07bc
90/10		27.41 ± 2.13ab	24.68 ± 0.89bc	24.58 ± 2.06bc
85/15		21.68 ± 0.89c	27.81 ± 3.94ab	22.98 ± 0.39c

Medias con letras diferentes difieren significativamente ($P < 0.05$).

La pérdida de peso es un parámetro importante en la producción de tortillas, si se reduce la pérdida de peso se obtendrán tortillas blandas, es un aspecto importante desde el punto de vista comercial en el rendimiento de las tortillas, con base en lo anteriormente dicho, las tortillas de lenteja y garbanzo al 15% presentaron la mayor calidad tecno-funcional.

CONCLUSIONES

Las tortillas formuladas con maíz/legumbre en general, presentaron características tecno-funcionales aceptables: un buen nivel de inflado, roabilidad y/o pérdida de peso por cocción. Es factible elaborar tortillas sustituidas con harina de lenteja y garbanzo hasta en un 15 % sin alterar su calidad tecno-funcional. La adición de haba disminuye la calidad que caracteriza a las tortillas de maíz. La harina de legumbre es una alternativa para ser incorporada en tortillas de maíz con el objetivo de mejorar su calidad nutricional sin alterar las propiedades tecno-funcionales.

BIBLIOGRAFÍA

Agama-Acevedo, E., Juárez-García, E., Evangelista-Lozano, S., Rosales-Reynoso, O. L., & Bello-Pérez, L. A. (2012). Características del almidón de maíz y relación con las enzimas de su biosíntesis . *Agrociencia*, 2.

Aguilera, Y. (2009). *Harinas de leguminosas deshidratadas: Caracterización nutricional y valoración de sus propiedades tecno-funcionales* . Madrid .

Ahmed Wani, I., Singh Sogi, D., Mumtaz Hamdani, A., Gani, A., Ahmad Bhat, N., & Shah, A. (2016). Isolation, composition, and physicochemical properties of starch from legumes: A review. *Starch Journal*, 2-7.

Alarcón, R. M. (Diciembre de 2015). Desarrollo de una tortilla adicionada con *Ulva clathrata* y evaluación de su índice glucémico. Yautepec de Zaragoza, Morelos, México.

Arámbula, G., Barrón, L., González, J., Moreno, E., & Luna, G. (2001). Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortilla de maíz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 187-194.

Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson educación.

Bello-Pérez, L. A., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., & Gonzalez-Soto, R. A. (2016). Functional and Beneficial Properties of Corn Tortilla. In K. Kristbergsson, & S. Ötles, *Functional Properties of Traditional Foods* (pp. 141-144). New York: Springer.

Betancur, D. (2020). Caracterización química y nutrimental de variedades de maíz (*Zea mays* L.) de alta calidad de proteína (QPM) desarrolladas en Yucatán, México. *Biotecnia*, 11.

Boza, J. (1991). Valor nutritivo de las leguminosas grano en la alimentación humana y animal. e-Dialnet.

Chávez González, J. L. (Abril de 2015). Estudios in vivo para evaluar el efecto fisiológico de la ingesta de tortilla de maíz adicionada con harina de nopal. Morelia, Michoacán, México.

Chel, L., Corzo, L., & Betancur, D. (2003). Estructura y propiedades funcionales de proteínas de leguminosas. *Revista de la Universidad Autónoma de Yucatán*, 37-39.

Cortés, I., Buendía, M. O., Palacios, N., Martínez, E., Villaseñor, H. E., & Hortelano, R. (2016). Evaluación de la calidad de la tortilla de maíz adicionada con harina de avena (*Avena Sativa* L.) nixtamalizada. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1715-1725.

Cuevas-Martínez, D., Moreno-Ramos, C., Martínez-Manrique, E., Moreno-Martínez, E., & Méndez-Albores, A. (2010). Nutrition and texture evaluation of maize-white common bean nixtamalized tortillas. *Interciencia*, 829-830.

FAO. (1993). Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/t0395s/t0395s00.htm>

González, R. S., & Hernández, P. E. (2012). Efecto en la calidad de las tortillas de mesa usando como aditivo harina de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) nixtamalizado.

Jiménez-Juárez, J., Arámbula-Villa, G., de la Cruz-Lázaro, E., & Aparicio-Tapia, M. (2015). Calidad nixtamalera y tortillera de maíces del trópico húmedo de México. *Revista internacional de botánica experimental*, 2.

Liu, T., Hou, G., Book, S., & Marquart, L. (2016). Effects of chemical leavening system and processing conditions on the opacity and other quality characteristics of whole-wheat flour tortillas. *Food Science and Technology*, 123-124.

Méndez-Alborés, A., Martínez-Morquecho, R., Moreno-Martínez, E., & Vázquez-Durán, A. (2012). Technological properties of maize tortillas produced by microwave nixtamalization with variable alkalinity. *African Journal of Biotechnology*, 15182-15183.

Rawal, V., & Bansal, V. (2019). Lentil: emergence of large-scale, export-oriented production . En V. Rawal, & D. K. Navarro, *The Global Economy of Pulses* (págs. 77-79). Rome : FAO.

Réndon-Villalobos, R., Ortíz-Sánchez, A., Solorza-Feria, J., & Trujillo-Hernández, A. (2012). Formulation, physicochemical, nutritional and sensory evaluation of corn tortillas supplemented with chía seed (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Food Science* , 118-125.

Rodríguez, B. (2016). Evaluación de propiedades funcionales de cuatro harinas de semillas de leguminosas comestibles cultivadas en Venezuela. *Revista Facultad de Agronomía* , 58-75.

Ruiz-Gutierrez, M., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C., Talamás-Abbud, R., Barnard, J., Márquez-Meléndez, R., & Lardizábal-Gutiérrez, D. (2011). Nixtamalization in two steps with different calcium salts and the relationship with chemical, texture and thermal properties in masa and tortilla. *Journal of Food Process Engineering* , 1-8.

SADER. (2023). Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/legumbres-uno-de-los-pilares-alimenticios-que-ofrece-el-campo-mexicano#:~:text=Agricultura%20indic%C3%B3%20que%20los%20estados,783%20mil%20pesos%20en%202021>.

Salinas-Moerno, Y., Castillo-Linares, E. B., Vázquez-Carrillo, M. G., & Buendía-González, M. O. (2011). Mezclas de maíz normal con maíz ceroso y su efecto en la calidad de la tortilla . *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* , 690-701.

Salinas-Moreno, Y., & Aguilar-Modesto, L. (2010). Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea mays* L.) sobre el rendimiento y calidad de la tortilla . *Ingeniería Agrícola y Biosistemas* , 6-10.

Sharma, A. (2021). A review on traditional technology and safety challenges with regard to antinutrients in legume foods.

Treviño-Mejía, D., Luna-Vital, D. A., Gaytán-Martínez, M., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2016). Fortification of commercial nixtamalized maize (*Zea Mays* L.) with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) increased the nutritional and nutraceutical content of tortillas without modifying sensory properties. *Journal of Food Quality*, 569-577.

Vázquez, L. (2013). Colpos digital. Obtenido de <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/1894>

GERMINACIÓN DE *Enterolobium cyclocarpum* EN EL LIMÓN GUADALUPE, MUNICIPIO DE TLACOACHISTLAHUACA, GUERRERO, MÉXICO

Lucelia Mora Ojendiz, Florentino Villavicencio González, Cesar Cristóbal Hernández, Eugenia Pacheco Cantú

Universidad Intercultural del Estado de Guerrero
lucy-uaaan@hotmail.com

RESUMEN

La especie *Enterolobium cyclocarpum* se localiza en zonas subtropicales y tropicales, en Guerrero se localiza en Costa Chica, además la parota es una especie recomendada en los programas de reforestación y restauración ecológica por el rápido crecimiento que tiene este árbol. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes sustratos (Aserrín, arena, tierra de monte, estiércol de arriera y lombricomposta) en la germinación de esta especie.

La realización del experimento consistió en el establecimiento de cinco tratamientos y cinco repeticiones cada uno, en donde se utilizaron bolsas de polietileno de color negro, las cuales se rellenaron con los diferentes sustratos (tratamientos) para posteriormente sembrar las semillas previo proceso de escarificación para romper la latencia, las variables evaluadas fueron germinación, diámetro del tallo y altura de la planta.

Los resultados mostraron que los tratamientos con mayor porcentaje de germinación fueron arena y tierra de monte con 90 %, mientras que el aserrín presentó el 70 % y los que presentaron menor porcentaje fueron la lombricomposta y el estiércol de arriera con 64 % y 62 % respectivamente.

En caso del diámetro del tallo el sustrato que presentó los mejores resultados fue tierra de monte con 0.065 mm, arena 0.022 mm, estiércol de arriera 0.014 mm y los que presentaron los resultados más bajos fueron aserrín 0.013 mm y lombricomposta con 0.013 mm.

De acuerdo a los resultados obtenidos para la variable altura de la plántula, los tratamientos que presentaron los mejores resultados fueron aserrín 14.4 cm, tierra de monte 9 cm, arena 8.9 cm y los que presentaron los resultados más bajos fueron estiércol de arriera con 7.3 cm y lombricomposta con tan solo 4.9 cm. Mientras que en otro trabajo realizado sobre la germinación y crecimiento de plántulas de caoba en condiciones de vivero, donde obtuvieron como resultado en el sustrato arena 0.067 mm en diámetro de la caoba,² resultado superior a lo que se encontró en la presente investigación.

Con base a los resultados obtenidos se puede decir que existieron diferencias estadísticas significativas entre los sustratos evaluados en la germinación, diámetro y altura de la especie *Enterolobium cyclocarpum*. Los sustratos que obtuvieron el mejor porcentaje de germinación de las semillas, fueron tierra de monte, arena y aserrín, mientras los sustratos que presentaron los valores más bajos fueron lombricomposta y estiércol de arriera.

INTRODUCCIÓN

El dominio de los sustratos sobre la germinación de las semillas de especies forestales, ha tenido un cuidado especial en encontrar el óptimo para cada una de ellas. En este sentido un sustrato es aquel que garantice altos porcentajes de mejora a la calidad de la planta, y a su vez, este presente una menor pérdida por factores naturales o factores adversos durante el proceso germinativo, por eso se dice que la germinación de las semillas se encuentra fuertemente influida por las características físico-químicas del sustrato empleado favoreciendo o dificultando la germinación y el crecimiento

(Aparicio, 1999). La composición que debe de tener un sustrato que deberán de ser seleccionados de manera que estén en base a su funcionalidad, costos, facilidad de manejo, ausencia de semillas de las hierbas y de insectos o patógenos (Ansorena, 1994).

Para producir plántulas fuertes y vigorosas es necesario tener un sustrato que suministre las características necesarias que se requieren para su desarrollo, para lo cual debe de mantenerse como un factor fijo, es decir, que sus propiedades físicas, químicas y biológicas no cambien, con el fin de establecer un manejo adecuado del recurso (Bures, 1994).

En este sentido *Enterolobium cyclocarpum* es una especie que se encuentra ampliamente distribuida en el estado de Guerrero y de la que no se tienen estudios en cuanto al comportamiento de la germinación en diferentes sustratos en este lugar, por esta razón y además porque también esta especie se encuentra distribuida en la comunidad de El Limón Guadalupe, es por ello que la presente investigación tiene como finalidad la determinación del mejor sustrato en la germinación de esta especie, debido a la poca información que se tiene en torno a este tema en la comunidad de El Limón Guadalupe, Tlacoachistlahuaca, Guerrero, con la finalidad de generar información para las personas interesadas en trabajar con la parota (*Enterolobium cyclocarpum*)

PARTE EXPERIMENTAL

COLECTA DE SEMILLA

La colecta de las semillas se realizó a principios de marzo y a mediados de mayo en diferentes sitios de la comunidad de El Limón Guadalupe, Municipio de Tlacoachistlahuaca, Guerrero. Los frutos se seleccionaron de árboles con características fenotípicas deseables, es decir árboles con fustes rectos, fuste limpio mayor a dos metros de altura, libre de plagas, enfermedades y con buena producción de frutos. La forma de colecta fue manual, escalando los árboles, para ello se usó una cuerda. Las semillas que se colectaron se guardaron en bolsas de plástico y se etiquetaron con la fecha de colecta, tal como lo menciona Quino (2013).

EXTRACCIÓN DE SEMILLAS

Para la extracción de las semillas, lo primero que se realizó fue el secado de los frutos, posteriormente se eliminaron las impurezas (como las semillas vanas, trozo de material vegetal y piedras) se procedió a despulpar los frutos, por último las semillas se guardaron a temperatura ambiente en bolsas de plástico.

OBTENCIÓN DE TRATAMIENTOS

ARENA: Para el caso de este tratamiento, este material se consiguió en el mes de mayo en el río que pasa por la comunidad de El Limón Guadalupe, Municipio de Tlacoachistlahuaca, Guerrero., de forma manual, extrayéndolo directamente del río.

ESTIÉRCOL DE ARRIERA: Este tratamiento se obtuvo en el mes de mayo, ya que es en estos meses es donde se puede conseguir, el cual fue extraído de la comunidad de Jicayán de Tovar, Municipio de Tlacoachistlahuaca, así como de la comunidad de estudio (Figura 1).



Figura 1. Colecta de estiércol de arriera.

LOMBRICOMPOSTA: Este tratamiento se obtuvo en el mes de julio de la Universidad Intercultural del Estado de Guerrero, ya que tienen un área (CEDEPA) en donde elaboran lombricomposta.

ASERRÍN: Este tratamiento se consiguió en el mes de mayo, en las propiedades de los señores Rafael Villavicencio Ramírez y Santiago Santos Camarillo, porque en estas propiedades se han derribados árboles, para el consumo de leñas y postes para corral, teniendo como derivado el aserrín (Figura 2).



Figura 2. Sustrato aserrín.

TESTIGO (TIERRA DE MONTE): El tratamiento que fue utilizado como testigo se consiguió en el mes de mayo, siendo la tierra que se encuentra en donde está establecida la especie (*Enterolobium cyclocarpum*) en estudio.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental utilizado en la presente investigación fue un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y cinco repeticiones cada uno (Cuadro 2), quedando distribuidos tal como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Referencia	Descripción
1	T1	Arena
2	T2	Estiércol de arriera
3	T3	Lombricomposta
4	T4	Aserrín
5	T5	Tierra de monte

ESTABLECIMIENTO DEL EXPERIMENTO

El experimento consistió en la germinación de semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (parota) en la comunidad de El Limón Guadalupe, Tlacoachistlahuaca, Guerrero, para esto se usaron bolsas de polietileno de color negro con medidas de 20 por 20 cm., las cuales se llenaron con cada uno de los tratamientos a evaluar, para el caso de la arena se utilizó 1 kg en cada bolsa; mientras que para el estiércol de arriera, lombricomposta, aserrín y tierra de monte se utilizaron 600 g en cada bolsa.

Para el establecimiento del experimento se seleccionaron las semillas más grandes, a las cuales se les aplicó un proceso físico de escarificación en cual consistió en lijar la testa de las semillas hasta que se observó el embrión. Después de la escarificación se pusieron a remojar en agua por 24 horas. Para la siembra se introdujo una semilla en cada bolsa a una profundidad de 3 cm. En cuanto al riego, el primero se aplicó el día de la siembra y posteriormente se regó cada tercer día hasta terminar las evaluaciones.

VARIABLES EVALUADAS

Germinación: Esta variable se evaluó a los 10 días después de la siembra con la finalidad de conocer el efecto que tuvieron los diferentes tratamientos (arena, estiércol de arriera, lombricomposta, aserrín y tierra de monte) en la germinación de la especie evaluada. En donde lo que se realizó fue el conteo de las plántulas emergidas del suelo.

Diámetro del tallo: En el caso del diámetro del tallo, se realizaron cuatro evaluaciones, las cuales se llevaron a cabo cada 15 días después de la siembra con el objeto de verificar si hubo algún efecto en los tratamientos evaluados, utilizando un vernier digital marca Mitutoyo.

Altura de la planta: La toma de datos de esta variable se realizó con una regla graduada, midiendo desde la superficie del sustrato hasta el ápice, de en donde las evaluaciones se realizaron a los 15, 30, 45 y 60 días, siendo cuatro evaluaciones en total, realizándose el 5 de agosto, 20 de agosto, 4 de septiembre y 19 de septiembre.

ANÁLISIS DE DATOS

Una vez obtenidos los datos se capturaron en una base de datos en el programa Excel, posteriormente se analizaron en el Programa SAS (Statistical Analysis System) versión 9.0, para después graficar los resultados obtenidos en el programa Sigma plot versión 10.1

RESULTADOS

GERMINACIÓN

Con respecto a la variable germinación, el análisis de varianza ($P \leq 0.05$) presenta diferencias estadísticas altamente significativas, lo cual indica que los tratamientos evaluados son diferentes (Cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados del análisis de varianza ($P \leq 0.05$) para la variable germinación.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	Significancia
Tratamiento	4	3824.0	956.0	15.93	0.0001
Error	20	1200.0	60.0		

De acuerdo a la prueba de comparación de medias realizada, se encontró que el T1 y T5 son estadísticamente iguales obteniendo el 90 % de germinación, siendo los mejores tratamientos, seguido del T2, T3 y T4 quienes estadísticamente son iguales, sin embargo numéricamente obtuvieron diferentes valores en la germinación con 62, 64 y 70 % respectivamente (Cuadro 3 y Figura 3).

Cuadro 3. Prueba LSD (Diferencia Mínima Significativa) de comparación de medias para la variable germinación.

Tratamiento	Germinación (%) agrupación LSD
T1	90 A
T5	90 A
T4	70 B
T3	64 B
T2	62 B

Medias con letras distintas indican diferencias significativas.

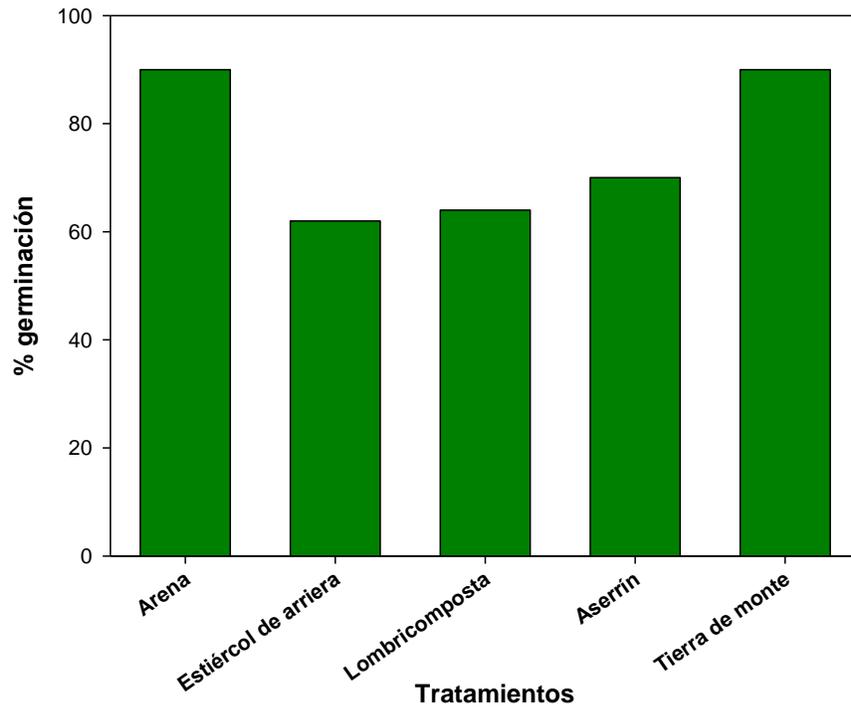


Figura 3. Porcentaje de germinación de los diferentes tratamientos

DIÁMETRO DEL TALLO

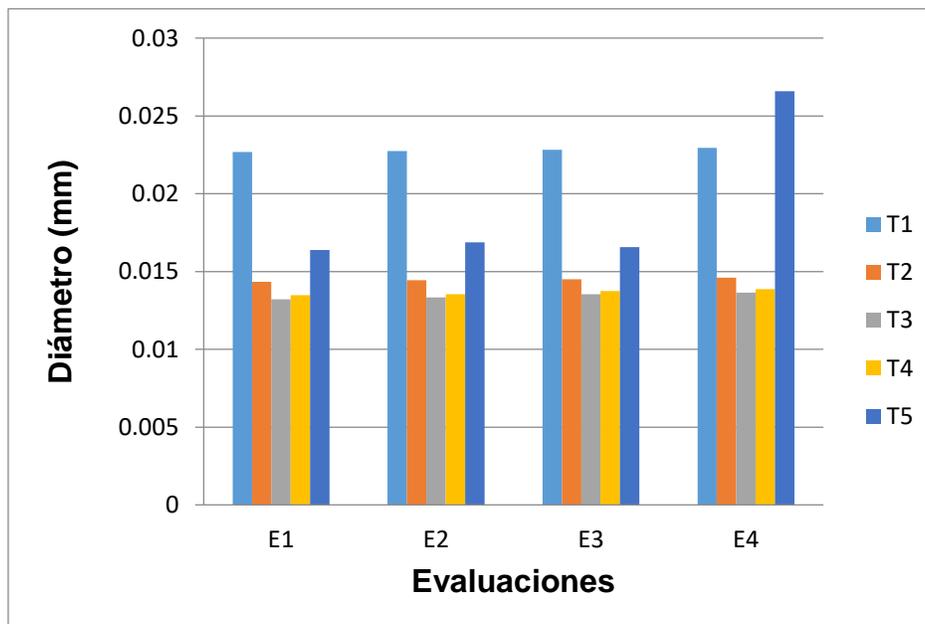


Figura 4. Comportamiento general de la variable diámetro del tallo en las cuatro evaluaciones.

ALTURA DE LA PLANTA

En cuanto a la tendencia de los tratamientos (sustratos) durante las cuatro evaluaciones para la variable altura de las plantas se puede observar en la figura 5 que el comportamiento fue diferente, mostrando diferencias significativas entre los tratamientos.

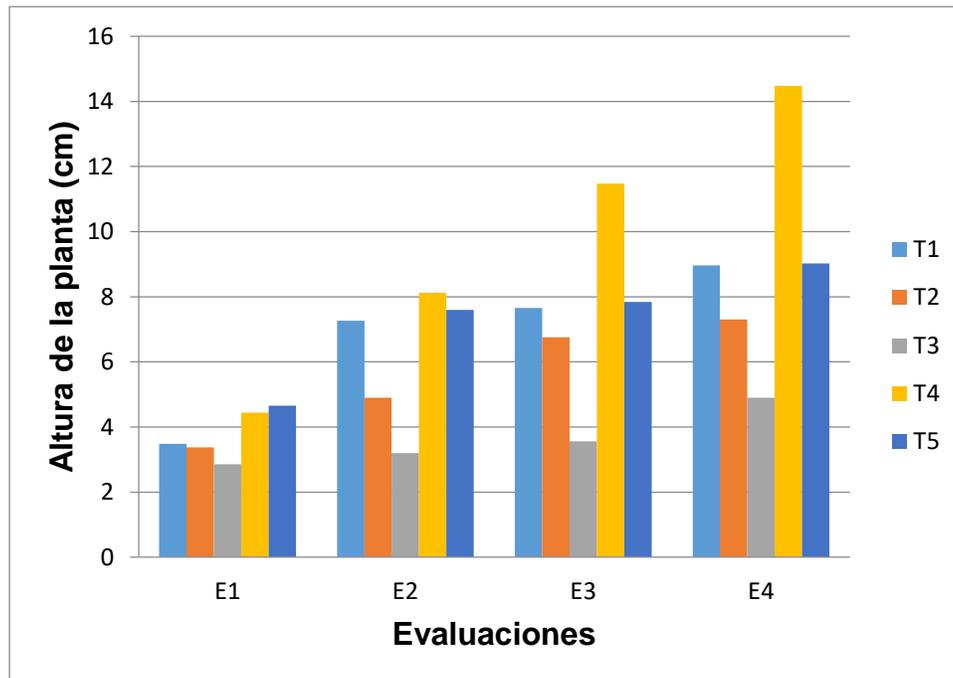


Figura 5. Comportamiento general de la variable altura de la planta en las cuatro evaluaciones.

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos se puede decir que existieron diferencias estadísticas significativas entre los sustratos en todas las variables evaluadas (germinación, diámetro y altura). Los tratamientos (sustratos) que obtuvieron el mejor porcentaje de germinación de semillas de *Enterolobium cyclocarpum*, fueron arena y tierra de monte presentando 90 %, seguido por el aserrín, lombricomposta y estiércol de arriera. En tanto que en la variable diámetro del tallo el tratamiento que presentó el mejor resultado fue la tierra de monte con 0.026 mm, seguido por la arena con 0.022 mm, mientras el estiércol de arriera 0.014 mm, el aserrín y la lombricomposta con 0.013 mm. Para el caso de la altura de las plantas el mejor resultado lo obtuvo el aserrín con 14.4 cm, en tanto que la tierra de monte 9.2 cm, la arena 8.9 cm, estiércol de arriera 7.3 cm y lombricomposta con tan solo 4.9 cm.

BIBLIOGRAFÍA

Ansorena, M., J. (1994). *Sustratos. Propiedades y caracterización*. Ediciones Mundi-Prensa.

Aparicio, R. A. Cruz, J. H. y Alba, L. J. (1999) *Efecto de seis sustratos sobre la germinación de Pinus patula Sch. Et Cham., Pinus montezumae Lamb. Y Pinus pseudostrobus Lindl.* En condiciones de vivero.

Burés, S. (1997). *Sustratos*. Ediciones Agrotécnicas. Ciudad Madrid.

Quino, K. (2013). *Germinación de semillas y crecimiento inicial de plántulas de Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb. Procedentes de la Costa de Oaxaca*. Tesis para Ingeniero Agrónomo publicada, Universidad Veracruzana Facultad de Ciencias Agrícolas. Ciudad Veracruz México.

CAPACIDAD DE EMISIÓN DE CHUPONES, TALLOS MOLEDEROS Y ACUMULACIÓN DE AZÚCARES EN TALLOS EN NUEVAS VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum* spp.)

Jazmin Lavin-Castañeda¹, Arturo Pérez-Vázquez², Libia I. Trejo-Téllez³, José López-Collado⁴, Gustavo López-Romero⁵, Juan Valente Hidalgo-Contreras⁶; María de la Luz Buendía-Valverde³, Fernando C. Gómez-Merino⁷

^{1,6,7}Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953. ^{1,2,4,5}Colegio de Postgraduados Campus Veracruz. Carretera Xalapa-Veracruz km 88.5, Tepetates, Veracruz, México. C. P. 91700. ^{3,7}Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: fernandg@colpos.mx

RESUMEN

En este estudio se evaluó el número de chupones de agua (mamones), el número de tallos molederos en 2 m lineales y °Brix en 11 variedades en Fase Semicomercial del proceso de selección, en comparación con los testigos comerciales CP 72-8086 (temprana), Mex 69-290 (intermedia) y Mex 79-431 (tardía). Cada variedad tuvo tres repeticiones, en 2 metros lineales considerando los surcos centrales de las parcelas. Se realizó un análisis de varianza y comparación de medias por el método de (Tukey, 0.05). Los chupones de agua en plantas son una característica no deseable en la agroindustria cañera porque reduce de manera significativa la producción industrial. La variedad que más chupones emitió fue el testigo comercial CP 72-2086, con ocho chupones por planta. Dos variedades en selección COLPOS 09-290 y COLPOS 09-312, no presentaron esta característica, mientras que COLPOS 09-321, COLPOS 09-333 y COLPOS 09-93 mostraron los menores valores (entre tres y cinco chupones) en comparación con el resto de las variedades. El resto de variedades, tanto comerciales como en selección, presentaron entre tres y siete chupones por planta. En relación al número de tallos molederos, todas las variedades mostraron medias estadísticamente similares a los testigos. Sin embargo, COLPOS 09-321 y COLPOS 09-132 superan a la variedad comercial Mex 79-431 que tuvo 40 tallos molederos en 2 metros lineales; mientras que, siete variedades en selección COLPOS 09-132, COLPOS 09-212, COLPOS 09-289, COLPOS 09-290, COLPOS 09-312, COLPOS 09-321 y COLPOS 09-333 son las que destacan respecto a esta variable. La variedad CP 72-2086 concentra 24.66 °Brix, superando a todas las variedades evaluadas en este estudio. En esta variable, las variedades en selección más prominentes fueron COLPOS 09-132, COLPOS 09-289, COLPOS 09-333 y COLPOS 09-431. Las variedades que están en proceso de selección presentaron entre 19 y 23.66 °Brix, valores similares al resto de variedades comerciales. Se concluye que, dentro del proceso de selección, las mejores cinco variedades fueron: COLPOS 09-132, COLPOS 09-289, COLPOS 09-290, COLPOS 09-312 y COLPOS 09-333.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido) es el cultivo agroalimentario más productivo en el mundo (Desjardins, 2014). Sin embargo, su producción reclama el abastecimiento de insumos como fertilizantes, pesticidas y agua, que tienen un significativo costo ambiental a expensas de los rendimientos obtenidos (Vera *et al.*, 2020). Además, la caña de azúcar está siendo seriamente

afectada por los efectos del cambio climático global (Zhao y Li, 2015; Mall *et al.*, 2016; Hussain *et al.*, 2018). Por lo tanto, la selección de nuevas variedades debe considerar tanto el potencial productivo de cada genotipo, como su capacidad de resistencia y tolerancia a factores de estrés biótico y abiótico agravados por el cambio climático global (Durai y Karuppaiyan, 2023; Thibane *et al.*, 2023). Para la estimación del rendimiento, las variables más determinantes son peso de tallos molederos, altura de tallos, diámetro de tallos molederos, pureza, grados Brix y rendimiento de tallos (Abu-Ellail *et al.*, 2020). En tanto, un óptimo poder germinativo y un crecimiento vigoroso en las primeras etapas de crecimiento de la caña, son criterios cruciales que al final pueden determinar el rendimiento en campo y fábrica (Madala *et al.*, 2023). La cuantificación de los grados Brix es un criterio determinante, dado que en el proceso de la cosecha en campo a la fábrica se pierde tanto material vegetal como sacarosa por degradación y tiempos de espera (Larraondo *et al.*, 2006).

La selección de variedades de caña de azúcar acoplado a un programa de mejoramiento genético convencional es un proceso que involucra 11 fases: Plántula, Surco, Cepa, Parcela, Multiplicación I, Prueba de Adaptabilidad, Multiplicación II, Evaluación Agroindustrial, Multiplicación III, Prueba Semicomercial y Semillero Comercial (Flores-Cáceres, 2001). Esto conlleva a que, para liberar una nueva variedad se tome un promedio de 15 años. En cada fase del proceso de selección se toman diferentes variables que permiten hacer estrictos análisis estadísticos para obtener las mejores variedades de cada ciclo.

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el número de chupones de agua (mamones), el número de tallos molederos en 2 m lineales y °Brix en 11 variedades en Fase Semicomercial del proceso de selección, en comparación con los testigos comerciales CP 72-8086 (temprana), Mex 69-290 (intermedia) y Mex 79-431 (tardía).

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación del experimento

Este estudio se realizó en el Campus Córdoba del Colegio de Postgraduados, ubicado en la Carretera Federal Córdoba-Veracruz km 348, congregación Manuel León, municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz, México (18° 50' latitud norte, 96° 51' longitud oeste, 650 m de altitud).

Material vegetal

Se evaluaron las siguientes 11 variedades en proceso de selección Fase Semicomercial en ciclo plantilla (Lavín-Castañeda *et al.*, 2022): COLPOS 09-66, COLPOS 09-93, COLPOS 09-132, COLPOS 09-208, COLPOS 09-212, COLPOS 09-289, COLPOS 09-290, COLPOS 09-312, COLPOS 09-321, COLPOS 09-333 y COLPOS 09-341. Se incluyeron las tres variedades comerciales siguientes como testigos: CP 72-8086 (maduración temprana), Mex 69-290 (maduración intermedia) y Mex 79-431 (maduración tardía).

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos fueron las 11 variedades de caña de azúcar en evaluación y las variedades comerciales. Cada variedad tuvo tres repeticiones, en 2 metros lineales considerando los surcos

centrales de las parcelas. Los tratamientos y repeticiones se distribuyeron en las parcelas experimentales en un diseño completamente al azar.

Evaluación de variedades

Se evaluó el número de chupones de agua (mamones), el número de tallos molederos en 2 m lineales y °Brix en 11 variedades en Fase Semicomercial del proceso de selección, y los testigos comerciales.

Análisis de datos

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$) usando el software R (R Core Team, 2020).

RESULTADOS

Algunas variedades de caña de azúcar emiten mamones o chupones de agua, los cuales son tallos que no alcanzan un desarrollo óptimo y por lo tanto no son productores de sacarosa (Sánchez-Hernández y Clara-Jacinto, 2017). Su presencia en las diferentes fases del proceso fabril es perjudicial tanto económica como industrialmente, ya que además de reducir la extracción, también baja la capacidad de molienda (Gómez-Juárez y Sánchez-Ferrer, 2010). Por lo tanto, la emisión de mamones o chupones de agua en plantas representa una característica no deseable en la agroindustria cañera.

En este estudio, el genotipo que más chupones emitió fue la variedad comercial CP 72-2086, con ocho chupones por planta. Resulta interesante haber observado que las variedades en selección COLPOS 09-312 y COLPOS 09-290, no presentaron esta característica no deseada. Las variedades COLPOS 09-312, COLPOS 09-321 y COLPOS 09-333 mostraron entre tres y cinco chupones. El resto de variedades, tanto comerciales como en selección, presentaron entre 5 y 7 chupones por planta (Cuadro 1).

Cuadro 1. Chupones de agua por planta (mamones) y °Brix en tercio medio del tallo moledero de caña; ciclo plantilla, Fase Semicomercial.

Variedades de caña/ Fase Semicomercial	Chupones de agua por planta	°Brix (Tercio medio del tallo)
COLPOS 09-66	7.33 ± ab	19.66 ± <u>ef</u>
COLPOS 09-93	5.33 ± ab	21.33 ± <u>bcdef</u>
COLPOS 09-132	6.67 ± ab	23.66 ± ab
COLPOS 09-208	6.33 ± ab	22.00 ± bcde
COLPOS 09-212	7.33 ± ab	19.00 ± f
COLPOS 09-289	3.00 ± ab	22.66 ± <u>abcd</u>
COLPOS 09-290	0.00 ± b	21.33 ± <u>bcdef</u>
COLPOS 09-312	0.00 ± b	19.00 ± f
COLPOS 09-321	3.00 ± ab	20.66 ± <u>def</u>
COLPOS 09-333	5.00 ± ab	23.00 ± <u>abcd</u>
COLPOS 09-341	5.67 ± ab	23.33 ± <u>abc</u>
MEX 69-290	4.66 ± ab	21.00 ± <u>cdef</u>
MEX 79-431	6.67 ± ab	22.33 ± <u>abcd</u>
CP 72-2086	8.33 ± a	24.66 ± a

Medias ± DE con letras distintas en cada columna, indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Respecto a la cuantificación del contenido de azúcares a través de refractómetro (°Brix), la variedad CP 72-2086 mostró la media más alta, de 24.6 °Brix, superando a todas las variedades evaluadas en este estudio. Las variedades que están en proceso de selección tuvieron entre 19.0 y 23.6 °Brix, valores similares al resto de variedades comerciales (Cuadro 1). En este rubro, las variedades más prominentes fueron COLPOS 09-132, COLPOS 09-289, COLPOS 09-333 y COLPOS 09-431.

En relación al número de tallos molederos, todas las variedades en selección mostraron medias estadísticamente similares a los testigos comerciales. No obstante, COLPOS 09-132, COLPOS 09-212, COLPOS 09-289, COLPOS 09-290, COLPOS 09-312, COLPOS 09-321 y COLPOS 09-333 superaron numéricamente a la variedad comercial Mex 79-431 que tuvo 40 tallos molederos en 2 m lineales, aunque las medias fueron estadísticamente similares entre ellas (Figura 2).

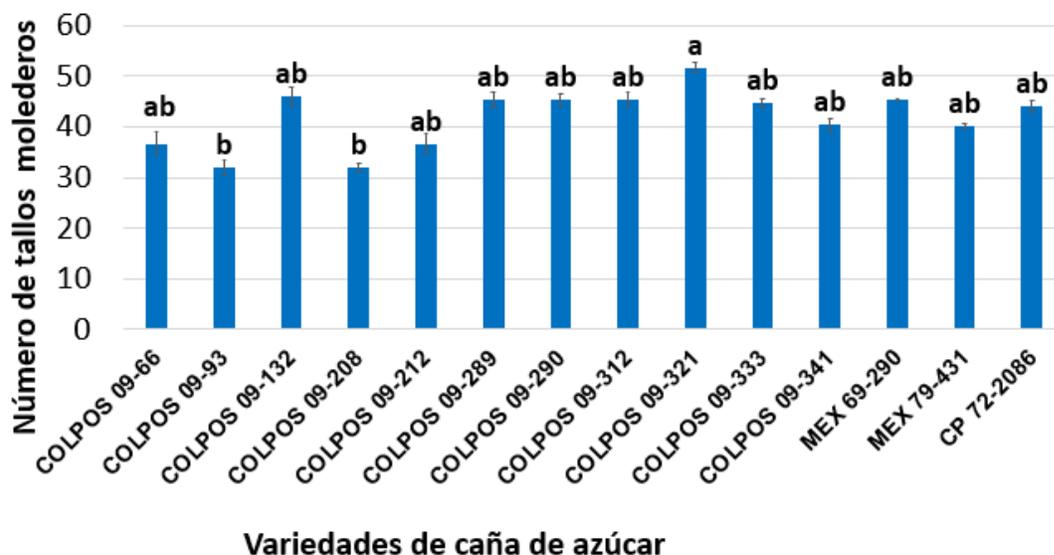


Figura 2. Número de tallos molederos de caña de azúcar en dos metros lineales, ciclo plantilla Fase Semicomercial. Medias \pm DE con letras distintas, indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Tomando en consideración la emisión de mamones o chupones, los grados Brix y el número de tallos molederos a la cosecha, se concluye que las mejores cinco variedades de caña de azúcar de este programa de selección son: COLPOS 09-132, COLPOS 09-289, COLPOS 09-290, COLPOS 09-312 y COLPOS 09-333, en comparación con los testigos comerciales.

BIBLIOGRAFÍA

- A. Durai & R. Karuppaiyan, "Potential parents for developing climate-resilient sugarcane varieties in India: A Breeding perspective", *In: Solomon S, Li YR, Rao GP (eds.), Agro-industrial perspectives on sugarcane production under environmental stress (Springer, Singapore, 2023), Chapter 4, pp. 57–83, https://doi.org/10.1007/978-981-19-3955-6_4*
- C. S. Flores-Cáceres, "Las variedades de caña de azúcar en México", Editorial ATAM: México, D. F., 2001, 308 p.
- D. Zhao & Y. R. Li, "Climate change and sugarcane production: Potential impact and mitigation strategies", *International Journal of Agronomy*, Vol. 2015, 547386, <https://doi.org/10.1155/2015/547386>
- F. F. B. Abu-Elail, E. M. A. Hussein & A. El-Bakry A, "Integrated selection criteria in sugarcane breeding programs using discriminant function analysis", *Bulletin of the National Research Center*, Vol. 44, 161, 2020, <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00417-6>

H. Sánchez-Hernández & I. Clara-Jacinto, "Evaluación de impurezas en caña de azúcar en el Ingenio El Refugio S. A. de C. V.", *Revista ATAM*, Vol. 11, 5, 2017, <https://www.atamexico.com.mx/wp-content/uploads/2017/11/5-COSECHAS-2016.pdf>

H. V. Madala, R. A. Lesmes-Vesga, C. D. Odero, L. K. Sharma & H. S. Sandhu, "Effects of planting pre-germinated buds on stand establishment in sugarcane", *Agronomy*, Vol. 13, 1001, 2023, <https://doi.org/10.3390/agronomy13041001>

I. A. Gómez-Juárez & M. E. Sánchez Ferrer, "Sistema de contenedores, una opción para reducir materia extraña en el alce mecanizado de la caña de azúcar", *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, Vol. 19, 1, 2010, pp. 30-33.

I. Vera, B. Wicke & F. V. D. Hilst, "Spatial variation in environmental impacts of sugarcane expansion in Brazil", *Land*, Vol. 9, 397, 2020, <https://doi.org/10.3390/land9100397>

J. Desjardins, "The World's Most Valuable Cash Crop", 2014, <https://www.visualcapitalist.com/the-worlds-most-valuable-cash-crop/>

J. E. Larrahondo, C. O. Briceno, M. Rojas, & M. Palma, "An assessment of after harvest sucrose losses from sugarcane field to factory", *Sugar Tech*, Vol. 8, 4, 2006, pp. 233-238.

R Core Team. "R: A language and environment for statistical computing". R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. URL <https://www.R-project.org/>

R. K. Mall, G. Sonkar, D. Bhatt, N. K. Sharma, A. K. Baxla & K. K. Singh, "Managing impact of extreme weather events in sugarcane in different agro-climatic zones of Uttar Pradesh", *Mausam*, Vol. 67, 2016, pp. 233–250.

S. Hussain, A. Khaliq, U. Mehmood U, T. Qadir, M. Saqib, M. A. Iqbal & S. Hussain, "Sugarcane production under changing climate: Effects of environmental vulnerabilities on sugarcane diseases, insects and weeds", *In: S. Hussain (ed.) Climate change and agriculture* (IntechOpen, London, England, 2018), Chapter 8, pp. 137–151. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81131>

Z. Thibane, S. Soni, L. Phali & L. Mdoda, "Factors impacting sugarcane production by small-scale farmers in Kwazulu-Natal Province-South Africa", *Heliyon*, Vol. 9, e13061, 2023, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13061>

DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE PROTEÍNAS DE SUERO DE LECHE Y SU EFECTO EN LA SECRECIÓN DE CCK EN CÉLULAS STC-1

Anaís Iñot-Gutiérrez¹, Gloriel Serena-Romero², Armando J. Martínez³, Mayvi Alvarado-Olivares³, Daniel Guajardo-Flores⁴, Elvia Cruz-Huerta^{5*}

Doctorado en Neuroetología, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91190, Xalapa-Enríquez, Veracruz, México.

Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91190, Xalapa-Enríquez, Veracruz, México.

Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91190, Xalapa-Enríquez, Veracruz, México.

⁴ Tecnológico de Monterrey, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Centro de Biotecnología FEMSA, Eugenio Garza Sada 2501 Sur, 64849, Monterrey, N.L., México.

⁵ Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91190, Xalapa-Enríquez, Veracruz, México.

*elvacruz@uv.mx

RESUMEN

El concentrado de proteína de suero de leche (WPC, por sus siglas en inglés) es considerado un producto de alta calidad nutricional debido a que durante la digestión gastrointestinal se liberan péptidos bioactivos que han mostrado efectos positivos en la salud, destacando su efecto en la saciedad. El cual se asocia con la liberación de hormonas anorexígenas intestinales, incluida la colecistoquinina (CCK) que participa enviando señales de saciedad al hipotálamo y que es secretada por las células I del duodeno y el íleon en respuesta a la interacción de secuencias peptídicas con receptores de membrana. En este estudio se evaluó la digestibilidad de las proteínas del suero de leche y su efecto en la secreción de CCK en la línea celular STC-1. Inicialmente, el WPC se sometió a una digestión gastrointestinal *in vitro* siguiendo el protocolo armonizado de Infogest. Al WPC y los digeridos gástricos e intestinales se les determinó el contenido de proteína mediante el ensayo de ácido bicinconínico (BCA) (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 minutos). Se evaluó su digestibilidad (%) y se usó electroforesis en gel SDS-PAGE para visualizar los patrones de proteínas y péptidos. Además, se determinó el efecto estimulante de la secreción de CCK en células STC-1 de los digeridos gástricos e intestinales y sus fracciones peptídicas con peso molecular mayor y menor a 3 kDa. Desde los primeros minutos de la fase gástrica del WPC se registró una alta digestibilidad entre 68.31 y 73.15%, y al final de la digestión gastrointestinal la digestibilidad fue de 89.51%. Los resultados coinciden con las bandas electroforéticas en el gel SDS-PAGE, las cuales disminuyeron su intensidad desde la fase gástrica hasta la fase intestinal. También se observó la degradación de las principales proteínas del WPC en fragmentos más pequeños, lo que destaca la importancia de la digestión gastrointestinal en la liberación de péptidos y aminoácidos a partir de las proteínas de suero. Además, se observó que los digeridos gástricos y sus fracciones peptídicas superior e inferior a 3 kDa incrementaron la secreción de CCK. Sin embargo, el digerido gastrointestinal del WPC que contenía péptidos de tamaño inferior a 3 kDa fue el principal inductor de la secreción de CCK en las células STC-1, posible consecuencia de que la estimulación de esta hormona se asocia con la acción de péptidos cortos. Concluyendo que el WPC tiene una alta digestibilidad, lo que le permite una mayor y más rápida liberación de péptidos bioactivos y aminoácidos que estimulan la secreción de la hormona CCK, asociada con el efecto de saciedad.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son macronutrientes esenciales para el correcto funcionamiento del organismo, su absorción ocurre en forma de péptidos y aminoácidos después de la digestión gastrointestinal. La calidad nutricional de las proteínas depende de la composición de sus aminoácidos esenciales y su digestibilidad, lo que tiene implicaciones importantes para la nutrición y la salud. Además, la digestibilidad es una característica crucial que condiciona la utilización de las proteínas en el organismo y se modifican de forma variable por la acción de las enzimas proteolíticas. Por lo tanto, se considera que las proteínas que se absorben completamente, es decir, que no dejan nitrógeno residual en las heces tienen una digestibilidad del 100% (Suarez-López *et al.*, 2006).

El WPC es un ingrediente alimentario con alto contenido proteico, que puede variar entre 35 y 85%, y se obtiene a partir del suero de leche. Sus principales proteínas son la β -lactoglobulina (50%) y α -lactoalbúmina (25%), aunado a fracciones menores como albúmina de suero bovino, inmunoglobulinas y lactoferrina, las cuales son ricas en aminoácidos esenciales y de cadena ramificada (Nouri *et al.*, 2022). Por lo que la importancia del WPC radica en el potencial que tienen sus proteínas y péptidos para prevenir y tratar enfermedades relacionadas con el estilo de vida, como la diabetes, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares y hepáticas, así como el cáncer (Zhao *et al.*, 2022).

Las proteínas del WPC también se han asociado con la regulación de la saciedad y la ayuda para mantener un peso saludable mediante la secreción de la hormona CCK (Hall *et al.*, 2003). Esta hormona se produce en las células I del duodeno y se secreta en respuesta a las proteínas y péptidos lácteos, lo que ayuda a regular la motilidad intestinal, modula la secreción de enzimas pancreáticas, retrasa el vaciado gástrico e inhibe la grelina para inducir la saciedad (Moran y Thapaliya, 2021). Por lo tanto, en este estudio evaluamos la digestibilidad *in vitro* de las proteínas del suero de leche, con un enfoque específico en su efecto en la secreción de CCK en células STC-1. La investigación busca profundizar sobre los mecanismos subyacentes que explican los beneficios de las proteínas del WPC en la regulación de la saciedad.

TEORÍA

La digestión gastrointestinal de las proteínas es un proceso complejo que involucra la acción de diferentes enzimas digestivas para liberar numerosas secuencias peptídicas y aminoácidos (Sanchón *et al.*, 2018). Estos compuestos pueden actuar como señalizadores moleculares, secretando hormonas anorexígenas que regulan la ingesta de alimentos y controlan la homeostasis de la glucosa (Raybould, 2020). Además, la velocidad de la digestión de las proteínas puede afectar la absorción de los aminoácidos e influir en su valor nutricional y sus propiedades funcionales, por lo que es importante conocer su digestibilidad (Tomé, 2013). Para ello, los protocolos de digestión *in vitro* permiten predecir la digestibilidad y evaluar los cambios estructurales de las proteínas en condiciones fisiológicas simuladas (Bohn *et al.*, 2018), lo cual proporciona ventajas en comparación con los ensayos *in vivo*, como alta reproducibilidad, menor costo y sin restricciones éticas (Brodkorb *et al.*, 2019).

PARTE EXPERIMENTAL

Digestión gastrointestinal *in vitro*

El WPC (Friesland Campina Domo, Zwolle, Países bajos) se sometió a una digestión gastrointestinal *in vitro* utilizando el protocolo de INFOGEST (Brodkorb *et al.*, 2019) que consta de la fase oral,

gástrica e intestinal. En la fase oral, el WPC (5 g) se diluyó (1:1; p/v) con fluido salival simulado (pH 7) y se incubó a 37 °C en un agitador orbital a 150 rpm durante 2 minutos. Para la fase gástrica, el bolo oral se diluyó (1:1; v/v) con fluido gástrico simulado (pH 3), se ajustó el pH a 3 con HCl 5 M y se agregó pepsina de mucosa gástrica porcina (2 000 U/mL) y se incubó a 37 °C durante 120 minutos a 150 rpm. En la fase intestinal, se mezcló la fase gástrica (1:1; v/v) con fluido intestinal simulado (pH 7), pancreatina (100 U/mL) y extracto biliar bovino (10 mM). El pH se ajustó a 7 con NaOH 1 M y se incubó a 37 °C durante 120 minutos a 150 rpm. La digestión se detuvo con el inhibidor de proteasas Pefabloc® SC (5 mM). Se obtuvieron alícuotas de las fases gástrica e intestinal a los 30, 60, 90 y 120 minutos para evaluar la digestibilidad. Se incluyó un blanco de digestión con una mezcla de las enzimas utilizadas a la misma concentración, pero sin la proteína sustrato. Las enzimas y reactivos utilizados en el proceso de la digestión gastrointestinal se adquirieron de Merck, Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Finalmente, los digeridos gástricos e intestinales fueron ultrafiltrados empleando tubos de ultrafiltración con una membrana de celulosa de 3 kDa ((Amicon® Millipore, Bedford, MA, USA).

Determinación del contenido de proteínas

La cuantificación de la proteína del concentrado y de los digeridos de WPC se realizó por el método del ácido bincinonínico (BCA), empleando albúmina de suero bovino (BSA) como proteína estándar. Las muestras (25 µL) se incubaron con 200 µL del reactivo BCA durante 30 minutos a 37 °C. Después se midió la absorbancia a 562 nm en un lector microplaca (Multiskan FC modelo IVD, Finlandia). Para la curva de calibración la solución de BSA se diluyó dentro del rango de trabajo del ensayo (125-2000 µg/mL).

Digestibilidad de proteínas *in vitro* (DP)

La digestibilidad de las proteínas se determinó empleando la metodología descrita por Najdi Hejazi *et al.* (2016). El porcentaje de digestión de proteínas se calculó restando la proteína no digerida de la proteína inicial de la muestra:

$$DP = \frac{\text{Proteína inicial} - \text{Proteína final no digerida}}{\text{Proteína inicial}} \times 100$$

Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE)

Se determinó el perfil de proteínas del WPC y los digeridos gástricos e intestinales a los 60 y 120 minutos en un gel de bis-trispoliacrilamida al 12% (Criterion_XT, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) de acuerdo con la metodología descrita por Vilcacundo *et al.* (2017). Las muestras se disolvieron a una concentración de 1 mg/mL en tampón (0.05 M, pH 6.8), Tris-HCl conteniendo 2% (p/v) de SDS y 5% (v/v) de 2 β-mercaptoetanol y se calentaron a 95 °C durante 5 minutos. La separación electroforética se realizó a 100 V durante 5 minutos y luego a 150 V, utilizando el tampón de ejecución XT MES (Bio-Rad) en la celda de criterio (Bio-Rad). Se utilizó un marcador de peso molecular conocido como estándar. EL gel fue fijado y teñido con una solución de azul de Coomassie (50% de agua, 40% de metanol, 10% de azul Coomassie) y decolorado con una solución (50% de agua, 40% de metanol, ácido acético al 10%).

Evaluación *in vitro* de la secreción de CCK en células STC-1

Para la determinación de la secreción de CCK se empleó la línea celular STC-1 obtenida de la colección de cultivos tipo americano (ATCC CRL3254) la cual fue cultivada medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) suplementado con 10% (v/v) de suero fetal bovino (FBS, Biowest, Kansas City, USA) y 1% de solución (v/v) de antibióticos (Biowest) a 37 °C en una atmósfera con 5% de CO₂ y 95% de humedad relativa. Se administraron las fracciones de los digeridos gástricos y gastrointestinales a las concentraciones de 1 y 4 mg/mL y se incubaron durante 1 hora. La concentración de CCK fue determinada empleando un kit comercial de inmunoensayo enzimático para CCK 26-33 (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, CA, USA). Antes de realizar los ensayos de secreción de CCK, se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo MTT después de incubar a 37 °C durante 2 horas con las muestras a la mayor concentración utilizada (4 mg/mL). El estudio se realizó en células con números de pasaje entre 19-22.

RESULTADOS

El WPC presentó inicialmente un contenido de proteínas del 79%, el cual disminuyó desde los primeros minutos de la fase de la digestión gástrica, presentando valores entre 25.04 y 21.21% hasta llegar a 8.29% de proteínas al final de la digestión gastrointestinal (Figura 1). Estos resultados indican que, durante la digestión, las proteínas del suero fueron degradadas a péptidos y aminoácidos libres por acción de la pepsina y la pancreatina. En cuanto a la digestibilidad de las proteínas, se observó un 68.31% durante los primeros 30 minutos de la fase gástrica, el cual aumentó ligeramente a lo largo de esta fase hasta alcanzar un máximo de 73.15%. Esta resistencia a la degradación total se puede explicar por las características estructurales de la β -lactoglobulina, que resiste a la acción de la pepsina y pueden afectar la proteólisis, lo que podría resultar en la presencia de péptidos de mayor tamaño en la fase gástrica (Dupont *et al.*, 2010; Sanchón *et al.* 2018). Durante la fase intestinal, se observó una mayor digestibilidad, con un 87.49% durante los primeros 30 minutos y un aumento al final de esta fase hasta un 89.51%. En general, se observó una degradación gradual de las proteínas del WPC con el transcurso del tiempo de digestión gastrointestinal simulada, lo que indica una alta digestibilidad de las proteínas del suero.

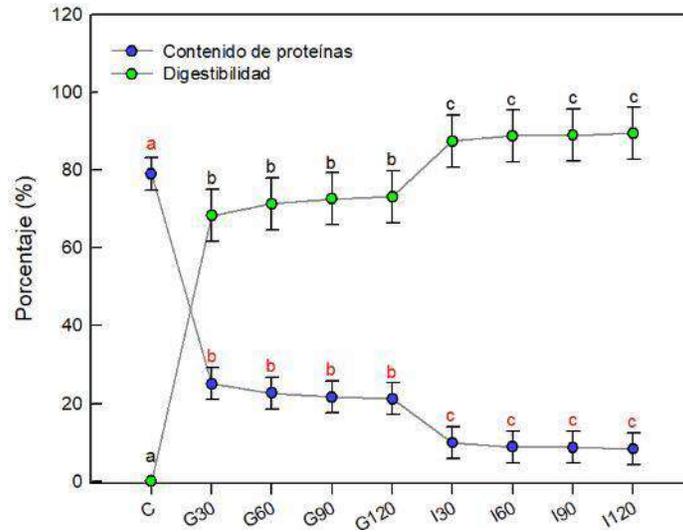


Figura 1. Contenido de proteínas y digestibilidad promedio (\pm intervalo de confianza al 95%) de WPC y sus digeridos gástricos y gastrointestinales en diferentes tiempos (30, 60, 90 y 120 minutos), los cuales fueron analizados por separado con un modelo de ANOVA de una vía. Además, los promedios que no comparten las mismas letras indican diferencias en los porcentajes por el método de Tukey para cada una de las variables analizadas.

Para complementar la investigación sobre la digestión de las proteínas del WPC, se realizaron perfiles electroforéticos del concentrado y los digeridos (Figura 2). Los resultados de digestibilidad coincidieron con las bandas electroforéticas en el gel SDS-PAGE, lo que indica altos niveles de digestibilidad de las proteínas del WPC. En el carril 2, se muestra el concentrado de proteína sin digerir, donde se identifican las principales proteínas del suero de leche, como α -lactoalbúmina (14.2 kDa) y β -lactoglobulina (18.4 kDa). En los carriles 3 y 4, se observa que la β -Lactoglobulina resistió la digestión gástrica hasta después de 120 minutos. Sin embargo, durante la fase intestinal (carril 5 y 6), la acción secuencial de la pepsina y la pancreatina provocó la degradación total de las proteínas después de 60 minutos, lo que destaca la importancia de la digestión gastrointestinal en la liberación de péptidos y aminoácidos a partir de las proteínas de suero.

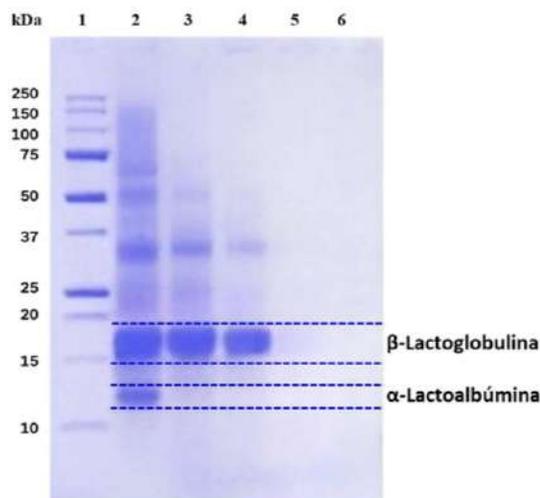


Figura 2. SDS-PAGE de proteínas de suero de leche en diferentes tiempos de digestión gastrointestinal simulada en condiciones reductoras. Carril 1: marcador de peso molecular; Carril 2: proteína sin digerir; Carril 3: digestión gástrica a 60 min; Carril 4: digestión gástrica a los 120 min; Carril 5: digestión gastrointestinal a los 60 min. y Carril 6: digestión gastrointestinal a los 120 min.

Por otro lado, para evaluar la secreción de CCK, los digeridos gástricos e intestinales se ultrafiltraron con una membrana de 3 kDa y se probaron dos concentraciones (1 y 4 mg/mL) en células STC-1, las cuales, no afectaron la viabilidad celular. Los resultados indican que todos los digeridos y fracciones estimulan la secreción de CCK, lo cual contrasta con el control, respaldado por las respectivas interacciones del modelo estadístico aplicado (Tabla 1). Además, se mostró un efecto dosis-respuesta en todas las muestras, siendo la concentración de 4 mg/mL la que estimuló la mayor secreción de la hormona (Figura 3). Es importante destacar que la fracción inferior a 3 kDa de cada digerido fue la que presentó mayor secreción de CCK en las células STC-1. Asimismo, la fracción inferior a 3 kDa del digerido intestinal tuvo mayor secreción de CCK. Estos resultados sugieren que los péptidos de bajo peso molecular que se encuentran en esta fracción son los principales responsables de la estimulación de la secreción de CCK en las células STC-1.

Tabla 1. Fuente de variación del Modelo de ANOVA de tres vías para la secreción de CCK en células STC-1 comparando entre los tres factores: Fase, Fracción y Concentración, y sus respectivas interacciones.

Fuente de variación	gl	F	p	Post hoc
Fase	1	453.70	0.001	DI > DG
Fracción	2	1006.05	0.001	m > M
Concentración	1	495.06	0.001	4 > 1
Fase x Fracción	2	96.32	0.001	
Fase x Concentración	1	53.81	0.001	

Fracción x Concentración	1	2.45	0.0	NS
Fase x Fracción x Concentración	1	19.80	0.001	Ver figura 3
Error	98			

Tabla 1. NS= no significativo, DI= digerido intestinal, DG= digerido gástrico, m= < 3 kDa, M= > 3 kDa, 4= 4 mg/mL, 1= 1 mg/mL. Las comparaciones de las interacciones se muestran en la Figura 3. Debido a que las variables de respuesta no cumplieron los supuestos de distribución de error normal y homogeneidad de varianzas, se ajustaron los modelos con los datos transformados a "rank".

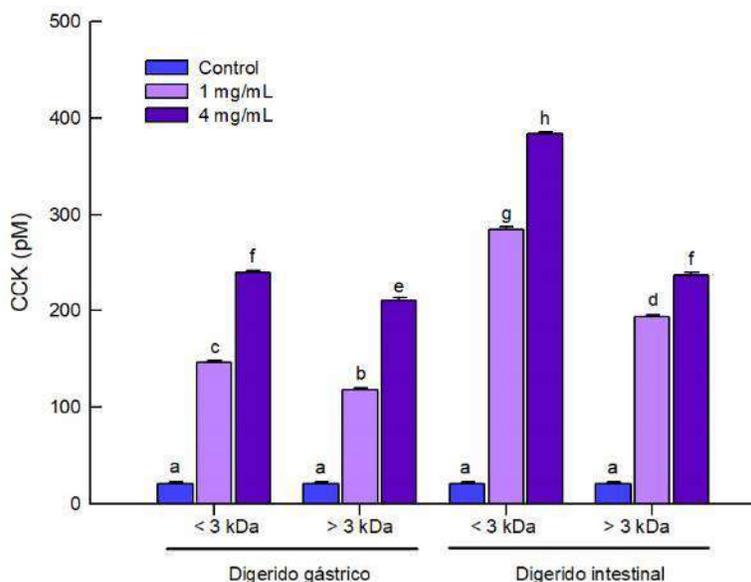


Figura 3. Secreción promedio (± error estándar) de CCK en células STC-1 por digeridos gástricos e intestinales de proteínas de suero de leche. Los promedios que no comparten las mismas letras indican diferencias en la concentración por el método de Tukey.

CONCLUSIONES

La alta digestibilidad del concentrado de proteína de suero permite una mayor y más rápida liberación de péptidos bioactivos y aminoácidos. Además, los digeridos gastrointestinales de proteína de suero inducen la mayor secreción de CCK en células enteroendocrinas STC-1, y el efecto sobre la secreción de CCK es dependiente de la dosis. Estos resultados pueden tener implicaciones importantes para el desarrollo de alimentos funcionales o suplementos que puedan dirigirse a respuestas fisiológicas específicas como la saciedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., & Dupont, D. Correlation between in vitro and in vivo data on food digestion. What can we predict with static in vitro digestion models? *Crit Rev Food Sci Nutr.*, Vol. 58,13, 2018, 2239-2261.
2. Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U. and Recio, I. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat. Protoc.*, Vol. 14, 4, 2019, 991-1014.
3. Dupont, D., Mandalari, G., Molle, D., Jardin, J., Léonil, J., Faulks, R. M., ... & Mackie, A. R. Comparative resistance of food proteins to adult and infant in vitro digestion models. *Mol. Nutr. Food Res.*, Vol. 54 (6), 2010, 767-780.
4. Hall, W. L., Millward, D. J., Long, S. J., and Morgan, L. M. Casein and whey exert different effects on plasma amino acid profiles, gastrointestinal hormone secretion and appetite. *Br. J. Nutr.*, Vol. 89, 02,2003, 239.
5. Moran, G. W., and Thapaliya, G. The gut-brain axis and its role in controlling eating behavior in intestinal inflammation. *Nutrients*, Vol. 13, 3, 2021, 981.
6. Najdi Hejazi, S., Orsat, V., Azadi, B., and Kubow, S. Improvement of the in vitro protein digestibility of amaranth grain through optimization of the malting process. *J. Cereal Sci.*, Vol. 68, 2016, 59-65.
7. Nouri, M., Gargari, B. P., Tajfar, P. and Tarighat-Esfanjani, A. A systematic review of whey protein supplementation effects on human glycemic control: A mechanistic insight, *Diabetes Metab. Syndr.*, Vol. 16, 7, 2022, 102540.
8. Sanchón, J., Fernández-Tomé, S., Miralles, B., Hernández-Ledesma, B., Tomé, D., Gaudichon, C., & Recio, I. Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chem.*, Vol. 239, 2018, 486-494.
9. Santos-Hernández, M., Amigo, L. and Recio, I. Induction of CCK and GLP-1 release in enteroendocrine cells by egg white peptides generated during gastrointestinal digestion. *Food Chem.*, 329, 2020, 127188.
10. Raybould, H. E. Vagal afferent innervation and the regulation of gastric motor function. *Neuroanatomy and physiology of abdominal vagal afferents*, 2020, 193-219.
11. Suárez López M. M., Kizlansky A. y López L. B. Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el escore de aminoácidos corregido por digestibilidad. *Nutr. Hosp.*, Vol. 21, 1, 2006, 47-51.
12. Tomé, D. Digestibility issues of vegetable versus animal proteins: protein and amino acid requirements-functional aspects. *Food Nutr Bull.*, Vol. 34, 2, 2013, 272-274.
13. Vilcacundo, R., Martínez-Villaluenga, C. y Hernández-Ledesma, B. Release of dipeptidyl peptidase IV, α -amylase and α -glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *J. Funct. Foods*, Vol. 35, 2017, 531-539.
14. Zhao, C., Chen, N. and Ashaolu, T. J. Whey proteins and peptides in health-promoting functions – A review, *Int. Dairy J.*, Vol. 126, 2022, 105269.

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE TOMATE (*LYCOPERSICON ESCULENTUM MILL.*) EN INVERNADERO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE TÉ DE LOMBRICOMPOSTA AL SUELO

Rodrigo I. Cordero Jauregui¹, Mariano A. Valdivia Dávila ², Blanca E. Morales Ruiz³, Cesar j. García Torres⁴, Alan García Mejía⁵, Elías Flores Ordorica⁶.

Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de los Altos.
mariano.valdivia@cualtos.udg.mx.

RESUMEN

Uno de los cultivos de mayor importancia económica en México y el mundo es el tomate (*Lycopersicon esculentum L.*). México es el principal proveedor a nivel mundial de tomate con una participación en el mercado internacional de 25.11% del valor de las exportaciones mundiales, para lograr los grandes rendimientos del cultivo se han implementado altas tecnologías y un gran aporte de fertilizantes sintéticos. No obstante, a lo largo de los años se han evidenciado los daños ocasionados por este tipo de fertilizantes tanto a los suelos como a los mantos freáticos, sin embargo, los vendedores de fertilizantes sintéticos insisten sobre la utilización de este tipo de fertilizantes ya que afirman que la agricultura agota la salud del suelo y da lugar a la pérdida del mismo debido a que las plantas extraen los nutrientes contenidos en la fracción de suelo. Una alternativa puntual para mitigar los efectos de este tipo de fertilizantes sintéticos es la utilización de sustancias orgánicas para el desarrollo de cultivos, dentro de estas sustancias orgánicas se encuentra el té de composta, el cual, no solo contiene nutrientes que ayudan al desarrollo de las plantas, sino que aporta microorganismos benéficos que al crear simbiosis con las raíces de las mismas proveen de agua, hormonas y brindan protección contra el ataque de patógenos. El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Universitario de los Altos de la Universidad de Guadalajara, ubicado en la ciudad de Tepatitlán de Morelos, Jalisco. En los meses de febrero a julio de 2022. Se evaluaron los rendimientos de jitomate bola (*Lycopersicon esculentum Mill.*) en invernadero mediante la incorporación de té de lombricomposta en dosis de 150 ml por planta, en comparación con una dosis de fertilización química ya establecida. Los tratamientos fueron los siguientes 1) té de lombricomposta. 2) fertilización química. 3) testigo. Por cada tratamiento se establecieron diez repeticiones y se colocaron completamente al azar en una línea de producción del invernadero en bolsas plásticas de 20 litros con sustrato. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey $p \leq 0.05$. En cuanto a los resultados el té de lombricomposta presentó el mayor rendimiento con un promedio de 92.6 ton/Ha, mientras que del tratamiento químico obtuvo un rendimiento promedio de 88.6 ton/ha y finalmente al testigo el cual presentó un rendimiento promedio de 67.5 ton/ha. Con la investigación realizada se concluye que el Té de lombricomposta es una buena alternativa en la producción de cultivos orgánicos si se realizan las aplicaciones adecuadas del mismo y sobre todo si se produce un té de composta de calidad; si se realizan las aplicaciones directamente al suelo el aporte de nutrientes y sobre todo los microorganismo contenidos en el té al ser un aporte vivo de hongos y bacterias realizan una simbiosis en las plantas dotando de sustancias estimulantes a las mismas, además de dotar de nutrientes a lo largo del ciclo del cultivo.

INTRODUCCIÓN

La producción de cultivos hortícolas, específicamente jitomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) mediante invernaderos garantiza un producto final de excelente calidad del mismo, esto aunado con el uso de abonos orgánicos, garantiza un producto orgánico para el consumidor (Tourant, 2000). El jitomate es el cultivo de mayor importancia en el mundo. México es el principal proveedor a nivel

mundial de jitomate con una participación en el mercado internacional de 25.11% del valor de las exportaciones mundiales (SAGARPA 2019). Debido a la importancia de este cultivo y las afectaciones ambientales que ocasiona la actividad agrícola actual, existe una tendencia hacia la producción orgánica. En la actualidad la agricultura orgánica es uno de los sistemas de producción más utilizados ya que se basa en el uso de insumos naturales como son la composta, los abonos verdes, extractos de vegetales, por mencionar algunos, en el cual, el objetivo primordial es que estén libres de residuos tóxicos (Gómez, *et al.* 1999). En los últimos años a nivel mundial el consumidor ha cambiado drásticamente su forma de vivir y obviamente el consumo de sus alimentos, esto enfocado en su salud, que aborda en el punto del contenido nutricional y el uso de sustancias químicas con el cual fue producido su alimento. El uso correcto de los fertilizantes orgánicos incrementa la aportación de los microorganismos en el suelo mejorando la cosecha de los cultivos agrícolas (Romera & Guerrero, 2000). En el cual se justifica la evaluación de alternativas naturales como son los residuos de cosecha, el uso de estiércol, los abonos verdes y la incorporación de compostas, que incrementan en un porcentaje el rendimiento por su aporte de materia orgánica a los suelos. Uno de los abonos más utilizados en las producciones agrícolas son las compostas.

La producción de composta se basa en la degradación de material de origen animal y vegetal mediante la acción de microorganismos o bien, mediante la incorporación de lombrices, dando como resultado un sustrato rico en nutrientes y biológicamente estable, en el cual, se lleva un proceso de varios factores como son el oxígeno, humedad y temperatura (Hernández, 1996). Otra alternativa que está tomando fuerza son los llamados Té, ya sea de composta o Lombricomposta, por su control en las enfermedades de plantas hortícolas, aporte de nutrientes y otras sustancias biológicamente estables como son las hormonas (NOSB, 2004). Diferentes investigaciones han demostrado que el uso de té de lombricomposta o composta en el follaje ayuda a suprimir ciertas enfermedades (Al-Dahmani *et al.* 2003; Hoitink & Changa 2004; Kannangara *et al.* 2006). Sin embargo, existe poca información del Té de lombricomposta agregado directamente al suelo. Finalmente, el objetivo de la investigación es evaluar el rendimiento de una variedad de jitomate mediante la adición de té de lombricomposta directamente al suelo, y con ello propiciar el que se genere la simbiosis entre los microorganismos y las raíces de las plantas.

TEORÍA

Producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.)

La producción mundial de tomate presentó un incremento promedio anual de +2.1% durante el periodo 2011-2020, mismo incremento que se obtuvo en el 2020 con respecto a 2019, según FAOSTAT, al pasar de 183,014,805 a 186,821,216 toneladas, siendo México el mayor productor con 3,370,827 toneladas y el mayor exportador con 1,663,316 toneladas. (FAOSTAT, 2020). En México se desarrolla particularmente bajo condiciones controladas como son los invernaderos, debido al incremento y adaptación de los diferentes tipos de producción (Sánchez *et al.*, 2010; Barrios *et al.*, 2015). La producción de cultivos de hortalizas en invernaderos genera una mayor calidad y rendimiento del producto (Espinoza y Ramírez, 2016).

Uso de fertilizantes químicos

El abuso de productos químicos en la agricultura es un tema de preocupación a nivel mundial, por el contenido de contaminación que puedan contener los frutos junto con el bienestar ambiental y las secuelas de los compuestos residuales en los suelos agrícolas (Eskenazi *et al.*, 2004; Hernández *et al.*, 2004). Para mitigar el uso de productos agroquímicos en el suelo y los productos vegetales se

recomienda el uso de productos orgánicos para erradicar insecticidas, herbicidas, reguladores, hormonas (Ruiz, 1998; Miller y Peet, 2002; FAO, 2001b).

Fertilizantes Orgánicos

La Lombricomposta y la composta son de los principales tipos de abonos orgánicos y se originan de residuos orgánicos tanto de origen animal o vegetal (Tuzel et al., 2003; Rippy et al., 2004; Kamiar y Anusuya, 2005), la vermicomposta como sustrato aporta nutrientes a los cultivos en invernadero reduciendo significativamente el uso de productos químicos (Manjarrez et al., 1999).

Las ventajas de los abonos orgánicos son notables, la vermicomposta se utiliza como mejorador de suelo en todos los tipos de cultivos hortícolas y sustrato en invernadero (Urrestarazu et al., 2001), Eleva la capacidad de intercambio catiónico (CIC), contiene un alto contenido de ácido húmico, a su vez retiene humedad, además, su porosidad facilita la aireación del drenaje del suelo (Ndegwa et al., 2000; Hasheminajd et al., 2004). Raviv (2004, 2005), menciona que las compostas son utilizadas por su bajo costo.

Té de composta o Lombricomposta

El té de composta es un concentrado líquido de la lombricomposta o composta, con un alto contenido de microorganismos benéficos, nutrientes solubles y compuestos benéficos para los cultivos vegetales (Dixon y Walsh 1998; Granatstein, 1999; Salter, 2006). El té de Lombricomposta o composta es un concentrado tanto de microorganismos benéficos como un alto contenido de ácidos húmicos y fulvicos, sin dejar de lado las cantidades importantes de nutrientes que aporta a los cultivos (Kannangara et al., 2006). Scheuerell y Mahaffee (2004), establecieron que en este concentrado se desarrollan poblaciones de microorganismos del género *Bacillus* por mencionar alguno.

El té de lombricomposta o composta se caracteriza por la transferencia de la biomasa microbiana, sus partículas finas de materia orgánica y sus compuestos químicos como nutrientes solubles que facilita su aplicación al suelo y/o tipo foliar (De Lara, 2007). Los productos químicos como los insecticidas, fumigantes, herbicidas y fertilizantes sintéticos, reducen la población de microorganismos benéficos de las plantas que apoyan al crecimiento de estas, mientras que el té de lombricomposta o composta aporta microorganismos benéficos, que ayudan a defender a las hojas de microorganismos patógenos (Abbasi et al., 2002; CCG, 2001). Así como, al ser aplicado de forma foliar al follaje de las plantas suprime ciertas enfermedades (Al-Dahmani et al., 2003; Hoitink, Changa, 2004; Kannangara et al., 2006). Sin embargo, a pesar de la difusión que se ha logrado sobre el té de composta existe poca o casi nada de información sobre la utilización como fertilización en la producción de jitomate en condiciones controladas en invernadero y en sustrato.

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Universitario de los Altos de la Universidad de Guadalajara, ubicado en la avenida Rafael Casillas Aceves número 1200, en la ciudad de Tepatitlán de Morelos, Jalisco. En los meses de febrero a julio de 2022. Se evaluaron los rendimientos de jitomate bola (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en invernadero mediante la incorporación de té de lombricomposta en dosis de 150 ml por planta (Ingham, 2005), en comparación con una dosis de fertilización química ya establecida. Los tratamientos fueron los siguientes 1) té de lombricomposta. 2) fertilización química. 3) testigo. Por cada tratamiento se

establecieron diez repeticiones y se colocaron completamente al azar en una línea de producción del invernadero en bolsas plásticas de 20 litros con sustrato del lugar mezclado con composta, a la cual, se le realizó un análisis para determinar las cantidades de los principales nutrientes (macronutrientes), el análisis se llevó a cabo mediante un analizador de nutrientes de la marca HANNA modelo HI83325. El extracto de suelo analizado se obtuvo mediante la metodología del apartado de fertilidad de suelo de la NORMA 021-RECNAT-2000.

La germinación de las plántulas utilizadas se realizó en las mismas instalaciones del Centro Universitario, para lo cual, se utilizó una variedad italiana denominada Pomodoro Pantano. Se colocaron en charolas de germinación de 200 cavidades, la emergencia se produjo al octavo día y posteriormente se continuó regando únicamente con agua potable hasta que la planta alcanzó una altura promedio de 10 centímetros (cm), posteriormente se trasplantaron en una línea de producción en un invernadero.

Para el té de lombricomposta se utilizó sustrato producido en el Laboratorio de Producción Vegetal del mismo Centro Universitario. Para su elaboración se siguió la metodología propuesta por Ingham, 2005, así como la dosis recomendada para suelo en su publicación.

Finalmente, durante el desarrollo de la planta de tomate se tomaron medidas de crecimiento y se realizaron podas de formación a un solo tallo, hasta alcanzar un desarrollo de la planta de aproximadamente 2 metros de alto con una formación de ocho racimos. El peso se determinó por planta individualmente separando cada uno de los tratamientos, a los resultados se les realizó un análisis de varianza y comparación de medias de Tukey $p \leq 0.05$, mediante el programa estadístico Minitab

RESULTADOS

Los resultados del análisis de suelo (Tabla 1) arrojan un alto contenido en la mayoría de los nutrientes analizados excepto en el caso del potasio (K^+) según la interpretación de la Norma oficial de suelos NON-021-RECNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.

Tabla 1. Interpretación del análisis de suelo

Muestras de suelo						
Elemento	Nitratos	Fosfato	Potasio	Calcio	Magnesio	Sulfatos
Valor de muestreo	26 ppm	64 ppm	24 ppm	4,340 ppm	1,300 ppm	320 ppm
Interpretación de la Norma	Medio	Alto	Muy bajo	Alto	Alto	Medio

El alto contenido en la mayoría de los nutrientes (macronutrientes), se atribuye a que, el sustrato se preparó con tierra del lugar y humus de lombriz en proporciones de 50:50 volumen, volumen (v/v). cabe mencionar que la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) con la cual se produce el humus, se alimenta única y exclusivamente con residuos generados en el restaurante del mismo Centro Universitario de los Altos.

En cuanto al rendimiento del cultivo se puede observar que no existen diferencias estadísticas entre el tratamiento con fertilizante químico y el tratamiento de té de lombricomposta, no obstante, si se observa una diferencia estadística en comparación con el testigo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Rendimientos y comparación de medias de Tukey $p \leq 0.05$

Tratamiento	Rendimiento Ton/ha	Tukey
Té	92.6	A
Químico	88.6	A
Testigo	67.5	B

Distintas investigaciones reportan que no existen diferencias significativas en cuanto al rendimiento de jitomate mediante la utilización de compostas combinadas con enmiendas orgánicas y fertilizantes sintéticos. Márquez *et al.*, 2013 mencionan en su investigación que el rendimiento de tomate con macronutrientes orgánicos y macronutrientes sintéticos y no presentan diferencias significativas entre ellos, más si con el testigo, al igual que la presente investigación como se puede observar en el cuadro 2.

Ortega y sus colaboradores en el 2010 reportan un rendimiento de 2.8 kg por planta en sustrato de composta, en su investigación del rendimiento de tomate en distintos sustratos. Al convertir los rendimientos de la presente investigación a kg/planta nos arroja un rendimiento de tan solo 1.1 kg/planta, inferior a lo reportado por Ortega et al., 2010, cabe mencionar, que ellos desarrollaron las plantas de tomate hasta una altura de casi cuatro metros y en la presente investigación solo se desarrollo a una altura máxima de 2 metros lo que se traduce a menos racimos por planta y por ende menor rendimiento en el cultivo.

CONCLUSIONES

La agricultura actual exige mayores rendimientos por la demanda cada vez mayor de estos productos, sin embargo, al provocar rendimientos superiores en los cultivos, también se aumenta el riesgo de utilizar sustancias que pueden provocar afectaciones al medio ambiente, por tal motivo, la utilización de productos orgánicos en la agricultura es una herramienta que cada día toma más relevancia sobre todo en la actualidad, con las nuevas tecnologías biotecnológicas como son el aporte de microorganismos benéficos en los cultivos. Dicho aporte se puede realizar de una forma sencilla mediante el té de lombricomposta, que de ser fabricado y aplicado adecuadamente resulta una alternativa viable en el desarrollo de cualquier cultivo, puesto que al crear una simbiosis con las raíces de las plantas dotan a las mismas de cierta resistencia contra el ataque de patógenos y proporcionan agua y nutrientes a las mismas, logrando producir alimentos de una manera sustentable y más orgánicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. De Lara. 2007. Compost tea. In Organic materials Management. California. <http://www.ciwmb.ca.gov/organic/compostmulch/composttea/default.htm>.
2. A. Hernandez. A. Gomez. M. G. Pena. F. Gil. L. Rodrigo. E. Villanueva. A. Pla. 2004. Effect of long-term exposure to pesticides on plasma esterases from plastic greenhouse workers. *J. Toxicol. Environ. Health. Part A.* 67: 1095-1108.
3. A. Kamiar. R. Anusuya. 2005. Compost for nitrogen fertility management of bell pepper in a drip-irrigated plasticulture system. *HortScience* 4:577-581.
4. A. P. Tourat. 2000. Time for compost tea in the northwest. *BioCycle* 41: 74-77.
5. B. Eskenazi. K. Harley. A. Bradman. E. Weltzien. N. P. Jewell. D. B. Barr. C. E. Furlong. N. T. Holland. 2004. Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environ. Health Persp.* 112: 1116-1124.
6. C.C.G. Cascadia Consulting Group. 2001. Compost tea Trials final report submitted to: Office of Environmental Management City of Seattle. <http://www.cityofseattle.net/environment/Documents/Final%20compost%20tea%report.pdf>.
7. F. J. F. Ruiz. 1998. La agricultura convencional Fuente de contaminación del suelo y agua. In memorias del III foro nacional sobre agricultura organica. Guadalajara, Jal. Méx. 5 al 7 de noviembre. Consejo Estatal de promoción económica del gobierno del estado de Jalisco, Universidad de Guadalajara y consejo nacional regulador de agricultura organica. Pp:29-30.
8. F. Sánchez. E. C. Moreno. R. Coatzín. M. T. Colinas. A. Peña. 2010. Evaluación agronómica y fisiotécnica de cuatro sistemas de producción en dos híbridos de jitomate. *Revista Chapinfo Horticultura* 16(3): 207-214.
9. FAO. 2001b. la comisión del codex alimentarius y el programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. SIN 1020-2579. 00100 Roma Italy. ANEXO 2: Substancias permitidas para la producción de alimentos orgánicos. Pp:54-60. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y2772S/y2772s0c.htm>.
10. FAOSTAT. 2020. Base de datos estadísticos corporativos de la organización para la agricultura y la alimentación.
11. H. A. J., Hoitink, C. M. Changa. 2004. Production and utilization guidelines for disease suppressive composts. *Acta Hort.* 635: 87-92.
12. Ingham R. Elaine. (2005). *The Compost Tea Brewing Manual*, 5th edition. Soil Foodweb, Incorporated, Corvallis, OR.
13. J. A. Milles. M. M. Peet. 2002. Maintaining nutrient balances in systems utilizing soluble organic fertilizers. Horticultural Science Department. North Carolina State University. Organic Farming Research Foundation Project Report. Disponible en: <http://www.ofrf.org/publications/grant%20reports/00.23.08.peet.spr00.IB12.pdf>.
14. J. H. P., Al-Dahmani, A. Abbasi, S. A. Miller, H. A. J. Hoitink. 2003. Suppression of bacterial spot of tomato with foliar spray of compost extracts under greenhouse and field conditions. *Plant Dis.* 87: 913-919.
15. J. M. Barrios, B. Suárez, W. Cruz, B. Barrios, G. Vázquez. A. Ibáñez. D. Moreno. 2015. Fertilización fosfatada en rendimiento y calidad de tomate en invernadero. *Revista Mexicana de ciencias Agrícola* 6(4): 897-904.
16. K. Hashemimajd. M. Kalbasi. A. Golchin. H. Shariatmandari. 2004. Comparison of vermicomposta and compost as potting media for growth of tomatoes. *J. plant Nutr.* 27: 1107-1123.
17. L. E. Espinosa. O. Ramírez. 2016. Rentabilidad de chile manzano (*Capscicum pubescens* R Y P) producido en invernadero en Texcoco, Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (2): 325-335.
18. M. L., Hernández. 1996. Agricultura orgánica: Producción de México hacia el mundo. Perspectivas de la educación y la investigación en material de agricultura orgánica. México, Editores. 4 pp.

19. M. M. J. Manjares. R. Ferrera-Cerrato. M. C. Gonzalez-Chavez. 1999. Efecto de la vermicomposta y la micorriza arbuscular en el desarrollo y tasa fotosintética de chile serrano. *Terra* 17:9-15.
20. M. Urrestarazu. M. c. Salas. M. I. Padilla. J. Moreno. M. A. Elorrieta. G. A. Carrasco. 2001. Evaluation of different composts from horticultural crop residues and their uses in greenhouse soil-less cropping. *Acta Hort.* 549: 147-152.
21. Márquez-Hernández, C., Cano-Ríos, P., Figueroa-Viramontes, U., Avila-Diaz, J. A., Rodríguez-Dimas, N., & García-Hernández, J. L. (2013). Rendimiento y calidad de tomate con fuentes orgánicas de fertilización en invernadero. *Phyton (Buenos Aires)*, 82(1), 55-61.
22. N.O.S.B., National Organic Standards Board. 2004. Compost tea task force report. The Agricultural Marketing Service/USDA <http://www.ams.usda.gov/nosb/meetings/CompostTeaTaskForceFinalReport.pdf>.
23. Ortega-Martínez, L. D., Sánchez-Olarte, J., Ocampo-Mendoza, J., Sandoval-Castro, E., Salcido-Ramos, B. A., & Manzo-Ramos, F. (2010). Efecto de diferentes sustratos en crecimiento y rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*) bajo condiciones de invernadero. *Ra Ximhai*, 6(3), 339-346.
24. P. A. Abbasi. J. Al-Dahmani. F. Sahin. H. A. J. Hoitink and S. A. Miller. 2002. Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems. *Plant Dis.* 86 156-161.
25. P. M. Ndegwa. S. A. Thompson. K. C. Dass. 2000. Effects of stocking density and feeding rate on vermicomposting of biosolids. *Bioresource Technol.* 71: 5-12.
26. P. M., Romera L. Guerrero, 2000. Agricultura ecológica (en línea). Disponible: www.nortecastilla.es/canalagro/datos/agricultura_ecologica/agricultura_ecologica05.htm.
27. T. L., Gómez, M. A., Gómez, R. Schwentesius, 1999. Desafíos de la Agricultura Orgánica. S.n.t. p. 224.
28. T., Kannangara, T. Forget, B. Dang. 2006. Effects of aeration, molasses, kelp, compost type, and carrot juice on the growth of *Escherichia coli* in compost teas. *Compost Sci. Util* 14: 40-47.
29. Vázquez Vázquez Pedro. García López Martina Z. Navarro Cortez Merle C. García Hernández David. (2015). Efecto de la Composta y Té de Composta en el Crecimiento y Producción de Tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) en Invernadero. *Revista Mexicana de Agronegocios*. Pp. 1351-1356.
30. www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA, 2019)

BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON RAÍZ DE *Jatropha dioica* PARA LA OBTENCIÓN DE UN NANOHÍBRIDO Au-TCPP CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL

A.I. Reyes-Aparicio¹, B.E. Jaramillo-Loranca¹, M. Villanueva-Ibáñez*¹, E. C. Garay-Garduño², G. Vargas-Hernández¹, D. L. García-Rubio¹ y M. A. Anducho-Reyes¹

1. Universidad Politécnica de Pachuca 2. Universidad Nacional Autónoma de México
[*villanueva@upp.edu.mx](mailto:villanueva@upp.edu.mx).

RESUMEN

La enfermedad COVID-19, causada por SARS-CoV-2, se caracteriza por la aparición de un síndrome respiratorio agudo severo. Estudios *in silico* demuestran que las proteínas E, N, y ORF3a del SARS CoV-2 interactúan con el grupo Hemo de la hemoglobina lo cual sugiere que se podría afectar la interacción entre la hemoglobina y el O₂ causando que el suministro de este vital gas resulte poco efectivo. Por otro lado, se sabe que las nanopartículas de oro (NPsAu) tienen afinidad por las proteínas y además se utilizan como transportadoras de fármacos. Para la obtención de NPsAu, la síntesis verde ofrece un método ecoamigable al utilizar extractos vegetales como agentes reductores y estabilizantes de las NPs. En el presente proyecto se propone un sistema híbrido de NPsAu con tetracarboxifenil porfirina (TCPP) utilizándola como señuelo, por su parecido al grupo Hemo. Las NPsAu se biosintetizaron con extracto acuoso de raíz de *J. dioica* evaluando diferentes variables como volumen de extracto, pH, y temperatura a fin de encontrar las mejores condiciones de síntesis. Se caracterizaron por espectroscopia UV-visible observando un máximo de absorción alrededor de 526 nm, característico de las NPsAu, se analizaron por dispersión dinámica de la luz (DLS) obteniendo un potencial Z de -54.2 mV y microscopía electrónica de barrido (MEB) donde se observaron tamaños entre 30 y 90 nm y morfología semiesférica. La interacción de las AuNPs con TCPP se evidenció mediante espectroscopia UV-Visible, donde se observa un desplazamiento de la banda Soret de 415 nm a 428 nm, además, mediante MEB fue posible apreciar la presencia de materia orgánica asignada a la porfirina. Se obtuvo un nanohíbrido Au-TCPP sin embargo es necesario evaluar las mejores condiciones para la obtención de un sistema estable.

INTRODUCCIÓN

La COVID-19 es causada por el coronavirus SARS-CoV-2, se originó a finales del 2019 en China; en enero del 2020 esta enfermedad cobró su primera víctima mortal, y en febrero del mismo año, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de China ya contaba con 72,314 casos reportados. Al expandirse rápidamente por todo el mundo se declaró pandemia en marzo de 2020 por la OMS, causando gran impacto a nivel económico, social y de salud (Escudero et al., 2020; Gubarev et al., 2021).

Hasta mayo del 2023, entre los 20 países más afectados se encontraba Estados Unidos con la mayor cantidad de casos confirmados, seguido de China, India, Francia, Alemania, Brasil, Japón, República de Corea, Italia, Reino Unido, Federación Rusa, Turquía, España, Vietnam, Australia, Argentina, Países bajos, Irán y México (World Health Organization, 2023).

Los grupos de personas que se ven más afectados por el COVID-19 son aquellos que presentan factores de riesgo como edad mayor a 60 años, hipertensión, diabetes o historia de enfermedad cardiovascular (Escudero et al., 2020). Esta enfermedad afecta a diferentes órganos, sin embargo, se destaca el pulmón ya que en este órgano se puede producir un síndrome respiratorio agudo severo, el cual se monitorea con la presión parcial de oxígeno y se trata principalmente mediante el suministro de oxígeno. La insuficiencia respiratoria severa por COVID-19 se puede desarrollar a cualquier edad, sin embargo, la mortalidad está relacionada con la edad, las personas de 80 años o

más tienen mayor mortalidad entre un 14 a 20%; los niños tienen menos probabilidad de sufrir enfermedades graves (5.2%) y críticas en un 0.2% (Maguiña et al., 2020). En este sentido, algunos estudios *in silico* sugieren que el SARS CoV-2 podría dificultar la unión entre hemoglobina y oxígeno mediante algunas de sus proteínas causando que el suministro de oxígeno resulte poco efectivo (Pascual et al., 2021). El virus se une a su receptor en la célula huésped mediante la glicoproteína S, una vez que ingresa al interior de la célula hospedera el RNA genómico es liberado para su traducción y replicación.

Actualmente se tienen solo dos medicamentos con acción antiviral aprobados contra esta enfermedad, el primero fue Veklury (Remdesivir), el cual, en octubre del 2020 la FDA autorizó su uso únicamente para pacientes con COVID-19 adultos y pediátricos de 12 años o mayores, que pesen al menos 40 kilogramos y que requieran de hospitalización (Sánchez, 2020). El segundo fue Molnupiravir aprobado por la EMA para tratar adultos con COVID-19 que no requieren oxígeno suplementario y que tienen un mayor riesgo de desarrollar COVID-19 grave (EMA, 2021). En ambos casos no hay datos suficientes de bioseguridad y están sujetos a seguimiento adicional.

Es evidente que, dado el impacto generado por la pandemia, es necesario el desarrollo de fármacos que se dirijan a las proteínas del virus para inhibir su funcionalidad. En un estudio de acoplamiento molecular se encontró que las porfirinas sustituidas asimétricamente con hetarilo presentan cierta afinidad con las proteínas virales S-, N- y nsp13 del SARS CoV-2. Estas porfirinas forman complejos fuertes (13 a 14 kcal/mol) con la proteína S, en el dominio de unión al receptor celular, interactúan con la proteína de la nucleocápside en la región rica en serina/arginina, y varios residuos de aminoácidos vulnerables se encuentran en la zona de fotooxidación, lo que ocasiona una complicación en el empaquetamiento de nuevo ARN viral para nuevos viriones (Gubarev et al., 2021).

Aunado a esto se ha sugerido que el SARS CoV-2 ataca a la hemoglobina y a la vía metabólica normal del hemo, causando una sobrecarga de hierro tisular, debido a que los virus dependen de los iones de hierro para replicarse dentro de las células huésped (Coronato, et al., 2021)

En la búsqueda de soluciones a esta problemática, se ha reportado que las nanopartículas de oro poseen propiedades como la Resonancia del Plasmón Superficial (RPS) útil para su identificación en la interacción con macromoléculas. Además, los materiales nanométricos pueden ayudar a incrementar la sensibilidad de las técnicas de diagnóstico existentes, los efectos ópticos y electrónicos que proveen la señal usada para la cuantificación de material genético o de anticuerpos, por lo que resultan útiles en su interacción con la proteína S (Durán et al., 2020).

Recientemente se ha informado que las nanopartículas de oro se han utilizado como adyuvante y portador, las cuales inducen una fuerte respuesta de IgG en un modelo experimental en ratones *in vivo* contra la infección por SARS-CoV (Sekimukai et al., 2020). Por otro lado, Huang, et al., en 2019 encontraron que los nanorods de Au funcionalizados con el péptido de hipertensión inducida por el embarazo (PIH) presentaron mayor inhibición respecto al PIH.

Por su parte, algunos extractos de plantas contienen metabolitos que presentan actividad antiviral, tal es el caso de *Jatropha dioica*, planta distribuida ampliamente en el estado de Hidalgo, empleada en la medicina tradicional para aliviar y desinfectar heridas. Se ha reportado que el extracto hidroalcohólico de esta planta contiene un compuesto con actividad antiviral moderada contra el VHS (Virus del herpes simple), y una baja citotoxicidad en células Vero teniendo un valor TC50 de 644 µg/ml (Silva, 2012). Además, el contenido de antioxidantes en forma de polifenoles, terpenos y flavonoides, (Errea, et al., 2010) puede actuar como agente reductor y estabilizador en la obtención de nanopartículas metálicas.

Es por ello que, en este proyecto se desarrolla un nanohíbrido conformado por AuNPs biosintetizadas con extracto de *J. dioica* unidas a TCPP como señuelo para el SARS CoV-2.

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de extracto vegetal.

Se recolectó la raíz de *J. dioica* en la comunidad de Buenavista en Zempoala, Hidalgo, México. Se lavó con agua corriente, posteriormente con agua desionizada, se cortó en trozos finos y homogéneos, y se preparó el extracto por decocción agregando la raíz de *J. dioica* en una relación 2:1 agua desionizada: raíz. La mezcla se llevó a 90°C por 1 minuto y se retiró del calor, dejándose enfriar a temperatura ambiente, después se centrifugó a 8000 rpm por 15 minutos seguido de filtración con membranas con poro de 0.45 µm y 0.2 µm.

Síntesis de nanopartículas de oro

Se utilizó ácido tetracloroáurico (HAuCl₄) como sal precursora de la síntesis a una concentración de 33 ppm. Para establecer las mejores condiciones, en primer lugar, se realizó una variación del volumen de extracto considerando 0.5 mL, 1.0 mL y 1.5 mL; posteriormente el pH de síntesis se varió en 6.5, 7.0 y 7.5, y finalmente, se realizó la variación de temperatura a 25°C y 50°C.

Interacción *in silico* de la TCPP con la proteína S del SARS CoV-2

Se descargó de la base de datos RCSB PDB la estructura de la glicoproteína S (6VXX) en formato PDB en el *software* Chimera® y se eliminaron los residuos NAG para obtener una estructura limpia. En el *software* Pymol® se seleccionaron los aminoácidos de interés. Así mismo, la estructura de la tetracarboxifenil porfirina (TCPP) fue obtenida de la base de datos PubChem en formato SDF, fue tratada en el *software* Avogadro® con una auto optimización de energía para obtener su conformación espacial y resguardada en formato Mol2.

En la página OPENBABEL - Chemical file format converter (cheminfo.org) se preparan los ligandos (estructura de la TCPP), para obtener la estructura adaptada a un pH de 7.4 en formato pdbqt. En el *software* AutoDockTools® se buscó la raíz de torsión del ligando, posteriormente se resguardó en formato pdbqt.

En el *software* PyRx® se cargó el ligando y la macromolécula (proteína S) en Vina wizard, se seleccionó la caja en la región donde se llevó a cabo el docking para obtener las coordenadas del grid center y el número de puntos. Con ello se obtuvo un archivo .txt con la información para realizar el *docking* molecular con AutoDock Vina®; en la terminal del sistema operativo se abrieron las carpetas correspondientes para llegar al archivo config.txt y se llevó a cabo el *docking* en el sitio RBD de la proteína S.

Síntesis de nanohíbrido AuNPs-TCPP

Los nanohíbridos se obtuvieron con diferentes relaciones molares de AuNPs:TCPP que se enlistan en la Tabla 1. Cada mezcla de síntesis se sometió a 24 h de incubación a 25°C con agitación constante y protegida de la luz.

Tabla 1. Relaciones molares en la síntesis del nanohíbrido

CLAVE	Relación AuNPs:TCPP (mM)
HB1	1:1.75
HB2	1:1.5
HB3	1:1.25
HB4	1:1
HB5	1:0.75
HB6	1:0.5
HB7	1:0.25

Caracterización de materiales

Espectroscopia FT-IR

El análisis se llevó a cabo en un equipo Agilent Technologies Cary 630 FTIR con muestras en polvo colocadas en el aditamento de reflexión atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) para identificar los grupos funcionales presentes tanto en el extracto como en las nanopartículas obtenidas con las mejores condiciones de síntesis. Cada muestra se le realizaron 50 escaneos en un rango de 4000-400 cm^{-1} .

Espectroscopia de absorción UV-Vis

Se utilizó un espectrofotómetro Cole Parmer 2800, con este análisis es posible identificar la formación de las AuNPs debido a que el oro metálico presenta una banda de absorción entre 500 y 600 nm, al término de cada síntesis se tomó una alícuota para analizar, utilizando agua desionizada como línea base. Del mismo modo, con los nanohíbridos se tomaron alícuotas al final de la reacción; además, se analizó una muestra de TCPP a una concentración de 1 mM para observar el cambio una vez que se pone en contacto con las AuNPs.

Determinación de Potencial Z

Se determinó el potencial Z de las nanopartículas obtenidas bajo las mejores condiciones, previamente lavadas y suspendidas en agua desionizada, mediante un equipo Microtrac Wave II.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La microscopía electrónica de barrido proporciona información sobre la morfología de los materiales, y una idea sobre el tamaño de las partículas. En este trabajo se colocó una muestra de nanopartículas de oro en una rejilla de cobre, observándose a una distancia de trabajo de 10 mm con un voltaje de aceleración de 20kV y un tamaño de punto en 30 con un microscopio electrónico de barrido JEOL, modelo JSM-6010LA.

Espectroscopia de fluorescencia

Algunos materiales como la TCPP emiten fluorescencia, lo cual resulta útil en la caracterización de los nanohíbridos, es por ello que para cada híbrido se tomó una alícuota y se analizó en un espectrofluorímetro HORIBA SCIENTIFIC, Xplora Plus a una excitación de 300 nm en un rango de 300 a 800 nm.

RESULTADOS

Obtención y caracterización de extracto

Se obtuvo un extracto acuoso de raíz de *J. dioica*, el cual fue caracterizado mediante análisis cualitativo fitoquímico para la determinación del tipo de metabolitos presentes (Tabla 2). De igual forma, se realizó análisis por FT-IR para la determinación de los grupos funcionales (Fig. 1.), es posible observar un pico en 3252 cm^{-1} característico de la presencia de grupos OH; en 2355 cm^{-1} se ubica la señal correspondiente a las amidas, y en 1716 y 1653 cm^{-1} se atribuyen grupos carbonilo. Se encuentra también la región de huella dactilar que se sitúa entre 1500 y 600 cm^{-1} ; se tienen señales a 1422 y 1335 cm^{-1} que indican grupos metilo y carboxilo, en 1209 cm^{-1} se encuentran alcoholes secundarios y en 984 y 828 cm^{-1} mono y disacáridos (Domínguez, et al., 2019).

Tabla 2. Análisis fitoquímico del extracto acuoso de raíz

Ensayo	Extracto de raíz
Molish (Carbohidratos)	+
Benedict (Azúcares)	+
FeCl ₃ (Flavonoides)	+
Acetato de cobre (Diterpenos)	+
Dragendorff (Alcaloides)	-

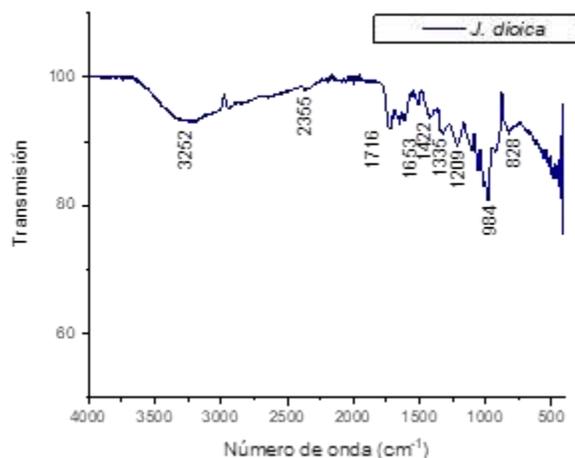


Fig. 1. Espectro FT-IR del extracto acuoso de *J. dioica*

Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro

Evaluación del efecto del volumen de extracto

Se sintetizaron AuNPs en condiciones de pH 7.5, a 25°C, evaluando tres diferentes volúmenes de extracto, 0.5 mL (1V), 1.0 mL (2V) y 1.5 mL (3V), la reacción se realizó durante 4 horas y transcurrido este tiempo, cada síntesis fue caracterizada por espectroscopia UV-Vis (Fig. 2a.). La menor longitud de onda de la banda se obtuvo con la síntesis realizada con 0.5 mL de extracto, Martínez et al., 2013 mencionan que las propiedades espectroscópicas de las nanopartículas proporcionan un indicador de su distribución de tamaño de acuerdo con la posición del RPS, por lo cual se continuó con la siguiente etapa usando 0.5 mL.

Evaluación del efecto del pH de síntesis

Considerando los resultados obtenidos en la etapa anterior, se utilizó un volumen de extracto de 0.5 mL, a una temperatura de 25°C y variando el pH a 6.5 (1 pH), 7.0 (2 pH) y 7.5 (3 pH). Una vez transcurridas las 4 horas del proceso, se tomó una alícuota para analizar por espectroscopia UV-Vis (Fig. 2b.), obteniendo la menor RPS a 530 nm con el pH de 7.5, por lo que se considera como el mejor resultado para continuar a la siguiente etapa.

Evaluación del efecto de la temperatura en la síntesis

Una vez obtenido el mejor volumen de extracto (0.5 mL) y pH (7.5) para llevar a cabo la síntesis de AuNPs, se hizo una variación de la temperatura de síntesis, para este caso se llevaron a cabo dos síntesis, una a 25°C (1T) y otra a 50°C (2T). Luego de las 4 horas de síntesis se analizaron por espectroscopia UV-Vis (Fig. 2c.), donde se puede observar que a 50°C se obtiene en 526 nm la menor posición del RPS.

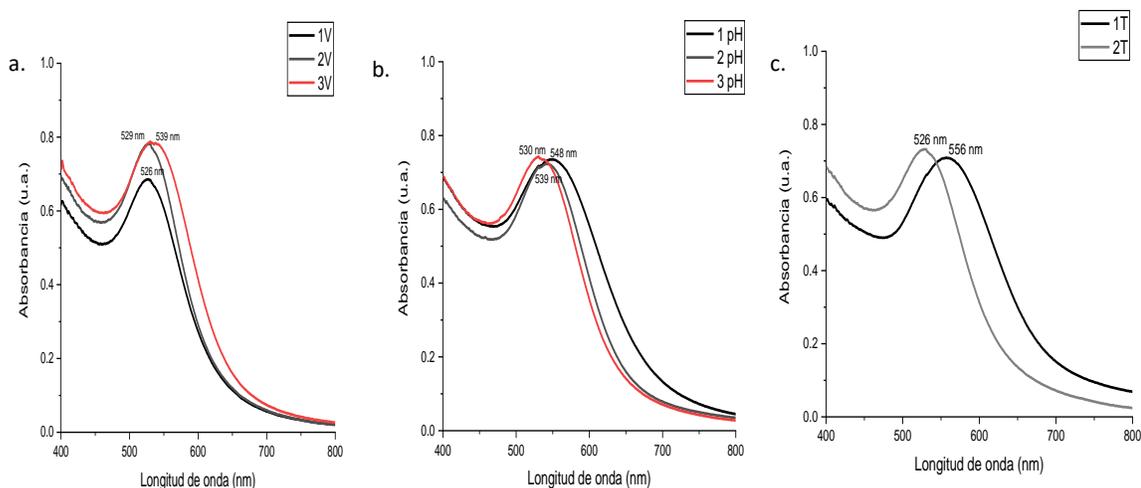


Fig. 2. Los experimentos se realizaron bajo diferentes condiciones de síntesis: a. Volumen de extracto vegetal, b. pH, y c. Temperatura.

Una vez obtenidas las mejores condiciones de síntesis las AuNPs se caracterizaron por DLS obteniendo un potencial Z de -54.2 mV, el cual indica que las nanopartículas de oro son coloidalmente estables (Batalla, Cuadros, & San Martín, 2014). El tamaño de las AuNPs por MEB es de aproximadamente 29 a 35 nm, semiesféricas y se observa alrededor de ellas un halo difuso que se puede atribuir a la materia orgánica proveniente del extracto (Fig. 3.). Por lo que se analizaron por FT-IR, donde se logró observar que los grupos funcionales presentes en la superficie de las nanopartículas son atribuidos al extracto (Fig. 4.).

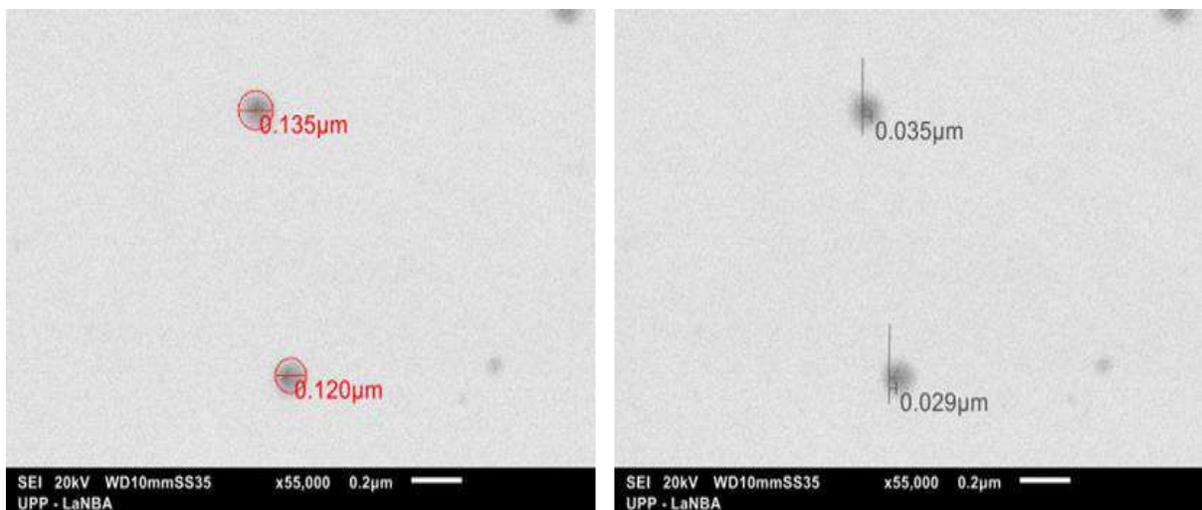


Fig. 3. Micrografía MEB de las AuNPs a las mejores condiciones de síntesis. A la izquierda se muestra el tamaño de la nanopartícula junto con el halo de extracto, y a la derecha únicamente la medición correspondiente a la nanopartícula.

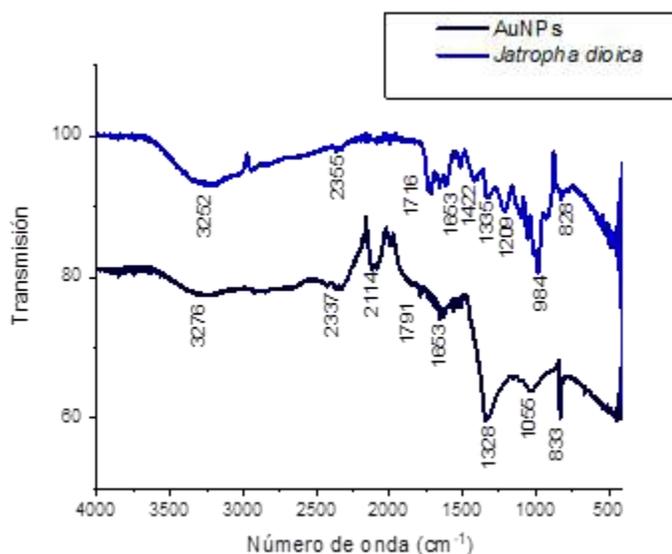


Fig. 4. Comparación de los espectros FT-IR de las AuNPs y del extracto de *J. dioica*

Análisis de acoplamiento molecular (*docking*) de la TCPP con la proteína S del SARS CoV-2

Se obtuvieron 9 modos de unión de la TCPP con el sitio RBD de la proteína S del SARS CoV-2 (Tabla 3), obteniendo una mejor energía de interacción de -9.0 kcal/mol, debido a que el modo que proporciona el menor valor de energía es el que da un mejor acoplamiento (Velásquez et al., 2013). Mediante el *software* Discovery Studio se obtuvo la representación bidimensional (Fig. 5.) donde se observan los aminoácidos con los que interactúa, SER366 y SER371, a través de interacciones de

Van der Waals, VAL367 por Pi-sigma, ASN370 por Pi- enlace de hidrógeno del donante, ALA372 por Pi-alkilo, LYS417 por Pi-cación y TYR421 Pi-Pi reposado.

Tabla 3. Energía de interacción en el acoplamiento molecular en la región RBD

MODO	Afinidad (kcal/mol)
1	-9.0
2	-8.6
3	-8.6
4	-8.6
5	-8.5
6	-8.4
7	-8.4
8	-8.3
9	-8.3

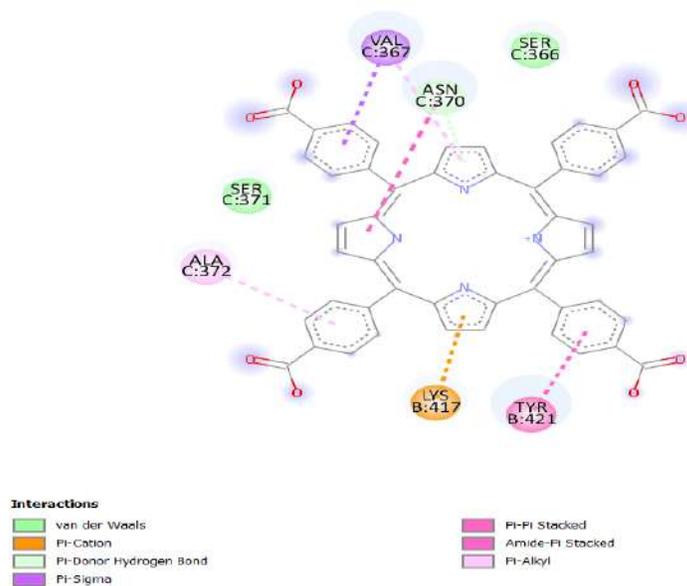


Fig. 5. Representación bidimensional más favorable del acoplamiento

Obtención del nanohíbrido AuNPs-TCPP

Al cabo de 24 horas de síntesis, cada híbrido y las soluciones de porfirina fueron caracterizados por espectroscopia UV-Vis, donde se observa el desplazamiento de la banda Soret de la TCPP (Figura 6). Spitaleri et al., 2020, mencionan que el desplazamiento de las bandas de la porfirina del orden de hasta 1 nm hacia la región del rojo indica una interacción con las AuNPs.

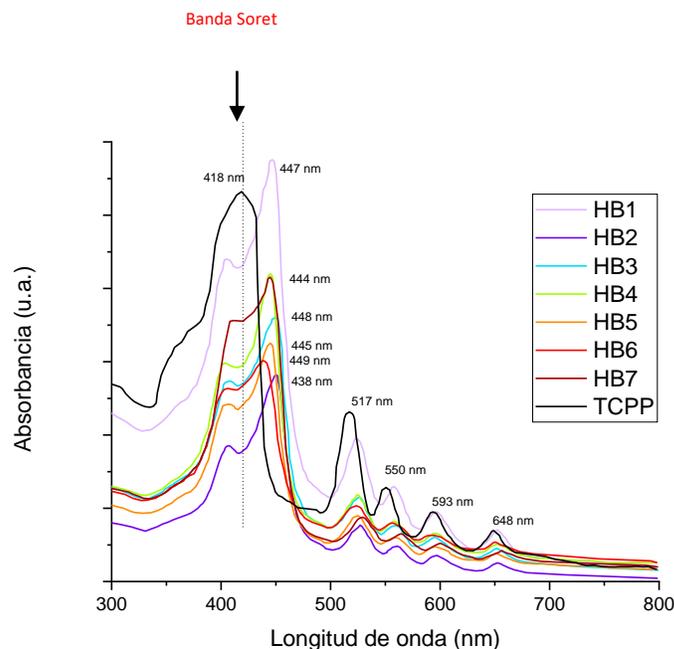


Fig. 6. Espectroscopia de absorción UV-Vis de los híbridos obtenidos

Además, se realizó la caracterización de los nanohíbridos mediante espectroscopia de fluorescencia con la finalidad de confirmar la mejor relación molar de TCPP y las nanopartículas de oro (Fig. 7.). De acuerdo con Spitaleri et al., 2020, la intensidad de la luminiscencia está relacionada con el recubrimiento de la superficie de las nanopartículas, por tanto, al alcanzar la máxima intensidad en luminiscencia esto corresponde a la concentración necesaria para la cobertura total de las AuNPs.

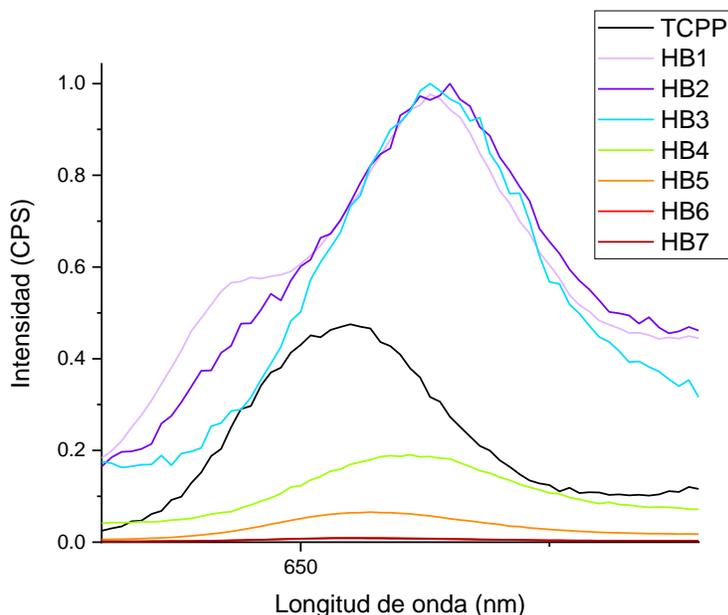


Fig. 7. Espectro de fluorescencia de los híbridos sintetizados AuNPs-TCPP

El nanohíbrido seleccionado fue el HB2, ya que a esta relación molar se encontró la máxima intensidad de luminiscencia. A una concentración más alta comienza a ocurrir un apagamiento de la fluorescencia (*quenching*), debido a que este *quenching* depende de la distancia de separación de la superficie metálica y la partícula luminiscente, ya que la transferencia de energía a la superficie del metal es el mecanismo del *quenching*, entonces al adicionar una concentración más alta en el sistema, las moléculas de porfirina se reticulan con las nanopartículas de oro, formando una red organizada de AuNPs-porfirina que apagan parcialmente la emisión de la fluorescencia, ya que las AuNPs y las porfirinas están más cerca unas de otras (Li et al., 2016; Spitaleri et al., 2020). Además, tal y como Spitaleri et al., 2020 mencionan, si una misma molécula de porfirina se uniera a diferentes AuNPs, la extinción de la emisión de la fluorescencia sería severa, por ende, se confirma que las moléculas de porfirina se unen a diferentes AuNPs.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron las mejores condiciones de síntesis de nanopartículas de oro con tamaño de partícula de alrededor de 29-35 nm, con las que se prepararon diferentes nanohíbridos. Se comprobó que las nanopartículas se encuentran biofuncionalizadas con los metabolitos presentes en el extracto de *J. dioica*. Por otro lado, el análisis *in silico* indicó que las energías de unión de la TCPP con la proteína S del SARS CoV-2 son favorables para la actividad antiviral. Finalmente, en los nanohíbridos obtenidos se logró observar que relación molar entre la porfirina y la AuNPs influye en la estabilidad coloidal; así mismo, propiedades espectroscópicas de la TCPP, como la fluorescencia, permitieron determinar la mejor relación molar donde se cubre completamente la superficie de la nanopartícula de oro con la porfirina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Batalla, J., Cuadros, A., & San Martín, E. (2014). Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Lat. Am. J. Phys. Educ.*, 8. Obtenido de http://www.lajpe.org/dec14/4319_San_Martin.pdf
2. Coronato, L., Rodrigues, F., & Masilamani, V. (2021). SARS-CoV-2, hemoglobin and protoporphyrin IX: Interactions and perspectives. In *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (Vol. 34). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102324>
3. Domínguez, L., Lagunes, L., Barajas, J., Olán, M., García, R., & García, P. (2019). Caracterización vibracional de grupos funcionales en granos de cacao durante el tostado usando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier. *Acta universitaria*, 29. doi:<http://doi.org/10.15174/au.2019.2172>
4. Durán, J. C., Martínez, C., & Mejía, D. (2020). El papel de la nanociencia y la nanotecnología en el marco de la pandemia de COVID-19. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 14(27), 1e–29e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2021.27.69647>
5. EMA (2021). EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Obtenido de <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-issues-advice-use-lagevrio-molnupiravir-treatment-covid-19>
6. Errea, R. A., Wong, M., Senador, L., Ramos, A., Ramos, K., Galea, J. T., Lecca, L., Sánchez, H., Benites, C., & Franke, M. F. (2021). Impacto de la pandemia por SARS-CoV-2 en adolescentes que viven con el VIH en Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 38(1), 153–158. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6296>
7. Escudero, X., Guarner, J., Galindo-Fraga, A., Escudero-Salamanca, M., Alcocer-Gamba, M. A., & Del-Río, C. (2020). The SARS-CoV-2 (COVID-19) coronavirus pandemic: Current situation and implications for Mexico. *Archivos de Cardiología de Mexico*, 90, 7–14. <https://doi.org/10.24875/ACM.M20000064>
8. Gubarev, Y. A., Lebedeva, N. S., Yurina, E. S., Syrbu, S. A., Kiselev, A. N., & Lebedev, M. A. (2021). Possible therapeutic targets and promising drugs based on unsymmetrical hetaryl-substituted porphyrins to combat SARS-CoV-2. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.08.003>
9. Huang, X., Li, M., Xu, Y., Zhang, J., Meng, X., An, X., Sun, L., Guo, L., Shan, X., Ge, J., Chen, J., Luo, Y., Wu, H., Zhang, Y., Jiang, Q., & Ning, X. (2019). Novel Gold Nanorod-Based HR1 Peptide Inhibitor for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(22), 19799–19807. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b04240>
10. Li, H., Kang, J., Yang, J., & Wu, B. (2016). Distance Dependence of Fluorescence Enhancement in Au Nanoparticle@Mesoporous Silica@Europium Complex. *Journal of Physical Chemistry C*, 120(30), 16907–16912. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b01312>
11. Maguiña Vargas, C., Gastelo Acosta, R., & Tequen Bernilla, A. (2020). El nuevo Coronavirus y la pandemia del Covid-19. *Revista Medica Herediana*, 31(2), 125–131. <https://doi.org/10.20453/rmh.v31i2.3776>
12. Martínez, J., Chequer, N., González, J., & Cordova, T. (2013). Alternative Methodology for Gold Nanoparticles Diameter Characterization Using PCA Technique and UV-VIS Spectrophotometry. *Nanoscience and Nanotechnology*, 2(6), 184–189. <https://doi.org/10.5923/j.nn.20120206.06>
13. Sánchez, G. (2020). U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. Obtenido de <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/la-fda-aprueba-el-primer-tratamiento-para-el-covid-19>
14. Silva, D. (2012). Aislamiento biodirigido de compuestos con actividad antiviral contra VHS-1 y VHS-2 a partir de plantas del noreste de México. [Tesis doctoral, Universidad Autónoma De Nuevo León Facultad De Medicina.]

15. Pascual, S., Ferrer, A., Díaz, Ó., Caguana, A. O., Tejedor, E., Bellido, S., Rodríguez, D. A., & Gea, J. (2021). Absence of Relevant Clinical Effects of SARS-COV-2 on the Affinity of Hemoglobin for O₂ in Patients with COVID-19. *Archivos de Bronconeumología*, 57(12), 757–763. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2021.03.015>
16. Sekimukai, H., Iwata-Yoshikawa, N., Fukushi, S., Tani, H., Kataoka, M., Suzuki, T., Hasegawa, H., Niikura, K., Arai, K., & Nagata, N. (2020). Gold nanoparticle-adjuvanted S protein induces a strong antigen-specific IgG response against severe acute respiratory syndrome-related coronavirus infection, but fails to induce protective antibodies and limit eosinophilic infiltration in lungs. *Microbiology and Immunology*, 64(1), 33–51. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12754>
17. Spitaleri, L., Gangemi, C. M. A., Purrello, R., Nicotra, G., Sfrazzetto, G. T., Casella, G., Casarin, M., & Gulino, A. (2020). Covalently conjugated gold–porphyrin nanostructures. *Nanomaterials*, 10(9), 1–19. <https://doi.org/10.3390/nano10091644>
18. Velásquez, M., Drosos, J., Gueto, C., Márquez, J., & Vivas-Reyes, R. (2013). Método acoplado Autodock-PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Rev. Colomb. Quim.*, 42(1).
19. World Health Organization. (2023, May). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/table>

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL MUCÍLAGO DE NOPAL EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DEL SUELO Y EL RENDIMIENTO DEL CILANTRO (*CORIANDRUM SATIVUM*)

Nellybeth Rodríguez Martínez, Alejandro Rodríguez Ortega, Judith Callejas Hernández y Laura Virginia Bustamante Espinosa

¹Universidad Politécnica de Francisco I Madero.
Autor por correspondencia; nrodriguez@upfim.edu.mx

RESUMEN

El mucilago de nopal es un coagulante floculante que puede depurar el agua residual doméstica, sin embargo, no ha sido probado en la producción agrícola. El objetivo del presente proyecto es caracterizar el suelo y evaluar el efecto del mucilago de nopal sobre la germinación y crecimiento del cilantro. De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que en relación a la textura del suelo la agregación de mucilago modifico la textura pasando de un suelo franco arcillo arenoso a un suelo franco, esto probablemente por los solutos presentes en el agua tratada con mucilago, quienes provocan una disminución en las partículas de arena. En relación al pH registrado en el agua, la adición de mucilago permite q el pH tienda hacia la neutralidad. La adición del mucilago incrementa el contenido de sales presente en el suelo, lo cual tendrá que ser acompañado de una práctica agrícola para evitar el incremento de este parámetro en el suelo. El mucilago permite decrecer los sólidos totales presentes en el agua tratada, parámetro que está relacionado directamente con la turbidez, quien determina la proliferación de algunas bacterias asociadas a la depuración del agua residual. En relación al pH del suelo la agregación de mucilago permitió que el valor del pH decreciera en relación a la muestra inicial del suelo (8.6 a 7.5). La conductividad eléctrica en el suelo se vio incrementada al agregar mucilago de nopal, lo que indica que puede propiciar condiciones para la salinización del suelo. El valor de la materia orgánica incrementó en la muestra final de suelo en 1.04 % comparada con la cantidad inicial de la muestra. El porcentaje gravimétrico de humedad se vio favorecido con la agregación del mucilago al agua de riego. Este parámetro físico permite generar condiciones atribuidas al contenido de humedad que pudieran apoyar a un adecuado crecimiento del cilantro. El agregar mucilago al agua residual a pesar de favorecer algunas de las características fisicoquímicas del suelo no promueve el crecimiento del cilantro a partir de la quinta semana, etapa en la cual el cilantro empieza a promover el crecimiento acelerado del follaje.

INTRODUCCIÓN

El Valle del Mezquital es una zona semiárida, donde hace más de un siglo las aguas residuales de la Ciudad de México empezaron a ser descargadas y utilizadas sin tratar, para el riego del valle del Mezquital. Si bien es sabida el agua potable debe presentar características de calidad como libre de turbidez, de color y de sabor perceptibles, así como otros parámetros regulados de acuerdo a las normativas de los países. Las aguas naturales raramente son de calidad satisfactoria para el consumo humano o el uso industrial y casi siempre deben ser tratadas. El escenario para la producción de cultivos en esta zona, es muy diferente ya que se ha estudiado el impacto de la recarga de agua residual en la abundancia de esporas en los sedimentos contaminados e incluso se ha estudiado la cantidad de metales en leche de vacas que se alimentan con pastura irrigada con las aguas residuales en el valle del Mezquital . Estudios recientes se han enfocado en la caracterización

de compuestos farmacéuticos en los sedimentos y agua subterránea del acuífero del valle del Mezquital, entre otros muchos estudios y aspectos evaluados para la producción de los cultivos.

Se ha encontrado que algunas sustancias permiten la remoción entre 95 % a 99.6 % para muestras de agua de río cuando utilizó coagulantes como Sulfato de Aluminio, Floculante Praestol 650 TR 9 y Floculante Químico Artesanal, encontraron una remoción de sólidos del 83% cuando utilizó Moringa como coagulante natural a 400 ppm, asimismo encontró un porcentaje de remoción que va de 20% a 100% cuando utilizó quitosano como coagulante, para la tuna *Cactus lefaria* el porcentaje de remoción estuvo entre 94% a 100% para dosis mínimas de 45 ppm y máximas de 180 ppm en todos los casos agregando CaO, mientras al agregar Sulfato de Aluminio a 12 ppm logró remociones de sólidos hasta del 92% cuando se aplicó 22.5 ppm de coagulante de tuna *Cactus lefaria*. Sin embargo estos compuestos son altamente tóxicos y costosos.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de la investigación es evaluar el efecto del mucilago del nopal sobre las características físicas químicas del suelo y el rendimiento del Cilantro en el Valle del Mezquital.

TEORÍA

En la Zona Metropolitana de la Ciudad de México se generan hasta 56.6 m³ /s de aguas residuales. Por más de cien años, estas aguas residuales de origen predominantemente doméstico han sido utilizadas sin tratar para regar más de 85 000 hectáreas de cultivo en el valle del Mezquital. Diversos estudios han mostrado los efectos nocivos de la aplicación directa de tales aguas en la salud y el medio ambiente, pero existen muy pocas investigaciones sobre su evaluación con fines de riego, considerando parámetros como salinidad y sodicidad. La evaluación del agua residual de los tres principales canales de drenaje (Gran Canal de Desagüe, Túnel Emisor Central y Río El Salto), indican que con excepción del pH, las aguas no cumplen con las normas mexicanas vigentes en los parámetros conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos, turbidez, iones bicarbonato y sodio. En cuanto a salinidad y sodicidad, estas aguas pueden usarse en forma directa siempre y cuando se tomen en cuenta las características del suelo donde se van a aplicar y algunas prácticas de manejo, como lavado de sales y uso de especies tolerantes a la salinidad. El riego prolongado con dichas aguas, con el tiempo podría afectar los suelos, por lo que se recomienda tratarlas antes de su uso directo.

El coagulante más usado es el sulfato de aluminio, el cual presenta muy buenos resultados en cuanto a la remoción de contaminantes, sin embargo, el impacto económico y medioambiental debido a su uso es muy alto. Además, su uso genera grandes cantidades de lodos de desecho, los cuales son difíciles de tratar.

En México existen 3 millones de hectáreas de nopal silvestre y 233,000 Ha de nopal cultivado, de los cuales 150,000 Ha son usadas para forraje y 13,000 Ha son cultivadas para la obtención de su fruto

El cilantro (*Coriandrum sativum* L.) es una planta aromática, usualmente se consume fresco y es fuente de vitamina K. En países de América Latina habitualmente se ingiere cruda y por el tipo de cultivo y prácticas de consumo puede presentar un gran número de bacterias entéricas y parásitos que son la causa principal de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación se llevó a cabo en el campo agrícola de la Universidad Politécnica de Francisco I Madero bajo un diseño experimental completamente al azar con 20 repeticiones y el testigo.

Antes de la siembra y al final del ciclo de cultivo se caracterizó físico – químicamente el suelo, bajo la NORMA Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Para la obtención del sustrato de las macetas se utilizó suelo agrícola del mismo campus con el objetivo de conservar las características de los suelos que han sido regados por cerca de 100 años con esta calidad del agua. Las 50 macetas (unidad experimental) fueron llenadas con 12 kilogramos de suelo cada una.

Para la obtención del mucilago de nopal se eliminó el parénquima medular de los cladodios y se utilizó 1 kilogramo de nopal sin espinas, licuados con 1 litro de agua, posteriormente, se pasó a través de una manta de cielo para eliminar sólidos, hasta obtener el mucilago clarificado, la turbidez se determinó por medio de la NORMA Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994:2000.

En cada riego a capacidad de campo se suministró 75 ml de mucilago por litro de agua residual, con 4 horas de tiempo de residencia hidráulica. De acuerdo al requerimiento del cultivo se dosificó el agua tratada durante el ciclo de cultivo. Así mismo se evaluó la calidad del agua de afluente y efluente. En el aspecto agronómico se monitoreo; porcentaje de germinación, altura de planta, diámetro de tallo y vida de anaquel.

RESULTADOS

En la tabla 1, se muestran las condiciones físico- químicas del suelo al inicio y al final del experimento, encontrado que en relación al pH, de una clasificación altamente alcalino, con la agregación del agua tratada disminuye significativamente el valor hasta una clasificación que tiende a la neutralidad, lo que permite que la mayoría de los cultivos puedan tener acceso a la disponibilidad de la mayoría de lo macro y micronutrientes. En cuanto a la conductividad eléctrica, la agregación del mucilago incrementó el valor 866 mS/cm, lo que puede ser un factor indeseable si se relaciona con la tolerancia que tengan los cultivos a la salinidad. El porcentaje de la materia orgánica incremento solo un 0.1 %, lo cual significativamente no representa algún beneficio, pero que con la agregación pudiera ir incrementando paulatinamente. En relación a la densidad aparente, el valor incrementa con la adición del agua tratada con el mucilago, situación que a largo plazo propiciaría piso de arado. La textura es un parámetro que se ve favorecido al agregar el agua tratada ya que El mucilago de nopal genera cambios en la textura del suelo, disminuyendo los porcentajes de arenas y arcillas, y aumentando al doble el nivel de Limos presentes. Finalmente el contenido de humedad in situ, se incrementa al agregar mucilago más agua residual, lo que indica que podría servir a la planta como una sustancia que minimiza el estrés hídrico por el aumento en la humedad contenida en el suelo.

Tabla 12. Condición inicial y final del suelo.

Parámetro	Suelo Inicial	Suelo Final
pH	8.6	7.5
CE (Ms/Cm)	2013	2879
M.O (%)	2.34	2.44
Densidad aparente (gr/cm ³)	1.24	1.45
Textura	Franco arenoso	Arcillo Franco
% de Humedad in situ	10.813	11.174

La agregación del mucilago de nopal al agua residual favorece significativamente la reducción de los sólidos totales hasta en un 60.55 %, parámetro que está relacionado con la y turbiedad que indica la efectividad del mucilago sobre el agua residual y el efecto coagulante – floculante que tiene el mucilago.

La conductividad eléctrica es un parámetro que crece con la adición de mucilago y debe considerarse como un aspecto que puede afectar el desarrollo del cultivo (Tabla 2)

Tabla 13. Condiciones del agua de riego cruda y con mucilago.

	Agua Residual	Agua con Mucilago
pH	7.63	7.4
CE Ms/Cm	1498	1586
Turbiedad (UNT)	294	162
Sólidos Totales (mg/l)	654	396

De acuerdo a la figura 1, el agua tratada con mucilago de nopal no favorece al crecimiento del cultivo antes de la quinta semana, sin embargo, posteriormente hasta la finalización del ciclo de cultivo el desarrollo se ve favorecido con el agua residual tratada, el testigo por su parte, al inicio de la germinación fue hasta 50 % mayor que el tratamiento, atribuido a que la semilla de cilantro es susceptible a la presencia de salinidad.

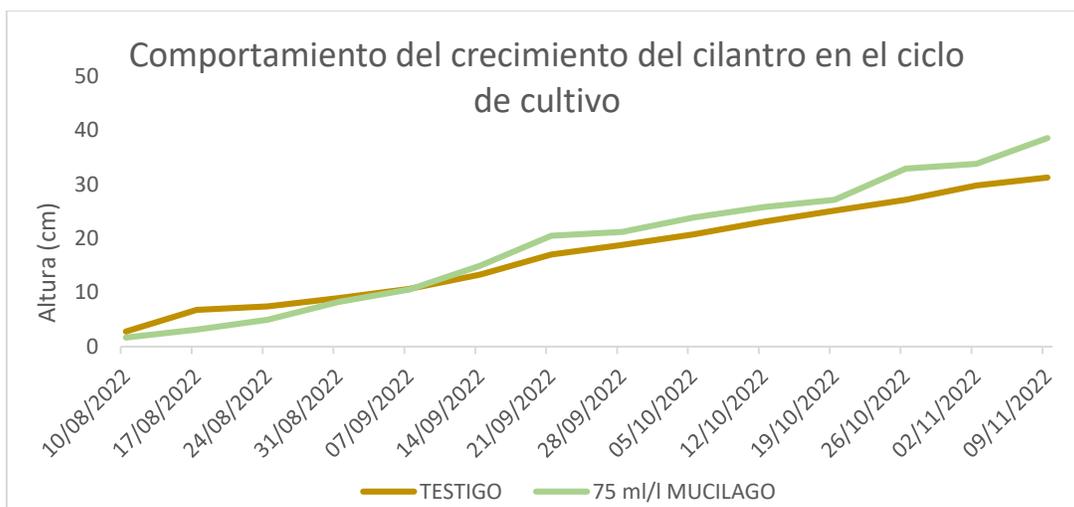


Fig. 1.- Tendencia del crecimiento durante el ciclo de cultivo

CONCLUSIONES

La adición de agua residual tratada con mucilago de nopal mejora las características fisicoquímicas del suelo y permite la depuración del agua residual, sin embargo, el efecto en la germinación y crecimiento las primeras etapas fenológicas del cultivo de cilantro son menores en el testigo. Posterior a los 28 días después de la siembra, el crecimiento es superior en el tratamiento adicionado con agua tratada. La efectividad del proceso de depuración es eficiente, sin embargo, el incremento en la conductividad eléctrica en el agua impacta en el desarrollo del cultivo de Cilantro. Es fundamental seguir evaluando la efectividad de tecnologías limpias y sustentables en la producción agrícola

BIBLIOGRAFÍA

Alvarado Ortega, J. F., & Hernández Castillo, J. J. (2005). Características físico-químicas de las variedades de tomate Bola y Saladett y cultivares criollo tipo Riñon. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Tulancingo de los Bravo, Hidalgo. Obtenido de <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/516/Caracteristicas%20fisico%20quimicas%20tomate%20bola.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Álvarez, E., & González, P. (2006). La fibra dietética. Nutr. Hosp, 61-72.

- Antinori, M. C. (2020). Fine-Tuning of physicochemical properties and growth dynamics of mycelium-based materials. *Applied Biomaterials*, 1031. doi:DOI: 10.1021/acsabm.9b01031
- Aubrey, M. S. (2022). Conversion of oil Palm By-productus into value-added products through oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation. *Horticulture*, 8, 1040.
- Balaes, T., Radu, B., & Tañase, C. (2023). Mycelium-Composite Materials—A Promising Alternative to Plastics? *Jornal of Fungi*, 9, 210. doi: <https://doi.org/10.3390/jof9020210>
- Cabrera, J., & Cárdenas, M. (2006). Importancia de la fibra dietética para la nutrición humana. *Rev Cubana Salud Publica* V32 n4, 20-55.
- Calderón Chávez, S., & Cárcamo Solís, M. (2018). Diversificación de la exportación de jitomate *Solanum Lycopersicum* a otros mercados . *Jóvenes en la ciencia*, 4(1), 1762-1766. Obtenido de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2568/1924>
- Candelas Cadillo, M. G., Alanís Guzmán, M. G., & Río Olague , F. (19 de Julio-Diciembre de 2006). Cuantificación de licopeno y otros carotenoides en tomate y polvo de tomate. *Revista Mexicana de Agronegocios*, X(19). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/141/14101911.pdf>
- CESAVEG. (2010). Gobierno del Estado. Obtenido de https://www.academia.edu/14439253/Campa%C3%B1a_Manejo_Fitosanitario_del_Jitomate_Manual_de_Plagas_y_Enfermedades_en_Jitomate
- Cruz Bojórquez, R. M., González Gallego, J., & Sánchez Collado, P. (2013). Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno . *SciELO*. doi:10.3305/nh.2013.28.1.6302
- Cuesta Trejo , A. (2007). El cultivo del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro, División de Agronomía, Coahuila. Obtenido de [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/EL%20CULTIVO%20DE%20L%20TOMATE,\(Lycopersicon%20esculentum%20Mill.\)..pdf?sequence=1#:~:text=El%20tomate%20\(Lycopersicon%20esculetum%20mill\)%20es%20una%20planta%20originaria%20de,y%20abunda](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1389/EL%20CULTIVO%20DE%20L%20TOMATE,(Lycopersicon%20esculentum%20Mill.)..pdf?sequence=1#:~:text=El%20tomate%20(Lycopersicon%20esculetum%20mill)%20es%20una%20planta%20originaria%20de,y%20abunda)
- Díaz Ortiz, J. E. (2005). Propuesta metabólica para determinar el potencial de humedad de un material granular a partir de la humedad relativa. *Ingeniería y Competitividad*, 7(1), 73-79. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/2913/291323470007.pdf>
- Elsacker, E., Laet, L., & Peters, E. (2022). Functional Grading of Mycelium Materials with Inorganic Particles: The Effect of Nanoclay on the Biological, Chemical and Mechanical Properties. *Biomimetics*, 7, 57.
- FAO. (2013). FAOSTAT. Obtenido de <https://www.notion.so/FAOSTAT-b316220509a74d5f9179df82455e8372>
- Gan, J., Soh, E., Saeidi, N., Javadian, A., Hebel, D., & Ferrand, H. (2022). Temporal characterization of biocycles of mycelium-bound composites made from bamboo and *Pleurotus ostreatus* for indoor usage. *Scientific Reports*, 17, 10262.
- González, A. (2000). Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble en algunas leguminosas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol. 50(3), 281-285.
- Hall, C., Hilen, C., & Garden-Robinson, J. (2017). Composition, Nutritional Value, and Health Benefits of Pulses. *Cereal Chemistry*, 11-31.

Hawlder M, N. A., Uddin M, S., Ho J, C., & Teng A, B. (21 de November de 1990). Drying characteristics of tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 14(4), 259-268. doi:10.1016/0260-8774(91)90017-M

Herrera Covarrubias, D., Fernández Pomares, C., Aranda Abreu, G. E., Domínguez Ortiz, M. Á., & Hernández Aguila, M. E. (2007). El licopneo y su papel en la prevención del cáncer de próstata. *Neurobiología*. Obtenido de <https://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2013/8/Herrera/HTML.html>

InfoAgro. (18 de Diciembre de 2019). Importancia económica del tomate en México. Obtenido de Toda la Agricultura, ahora en sus manos: <https://mexico.infoagro.com/importancia-economica-del-tomate-en-mexico/>

Ironika. (2016). El origen del tomate, su distribución y descubrimiento. Obtenido de <https://tomatecanario.es/origen-del-tomate/>

Long, J. (1995). De Tomates y Jitomates en el siglo XVI. (É. D. García, Ed.) *Estudios de cultura Náhuatl* (25), 239-252. Obtenido de <https://nahuatl.historicas.unam.mx/index.php/ecn/issue/view/5834>

Mahan, L., Foster, L., & Dahl, W. (10 de Marzo de 2023). IFAS Extension. Obtenido de University of Florida: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/FS240>

Manivel Chávez, R. A. (2011). Determinación de la cantidad de licopneo y firmeza mediante el uso de pruebas no destructivas para evaluar el proceso de maduración en fruto de jitomate (*Lycopersicon Esculentum*) variedad Saladette. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán. Obtenido de http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1993/FQFB-M-2011-0022.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Martínez, A., Rodríguez, M. E., York, S. W., Preston, J. F., & Ingram, L. O. (2000). Use of UV absorbance to monitor furans in dilute acid hydrolysates of biomass. *Biotechnol*, 16, 637-641.

Ochoa Reyes, E., Ornelas Paz, J. J., Ruiz Cruz, S., Ibarra Junquera, V., Pérez Martínez, J., Guevara Arauza, J. C., & N, A. C. (2013). Tecnologías de deshidratación para la preservación de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill). *Ciencias Biológicas y de la Salud*, XV(2), 39-46.

Ordóñez, A. L., Balanza, M. E., Martín, F. R., & Flores, C. A. (2009). Estabilidad del carotenoide licopeno en tomates en conserva. *SciELO Alimentos y Biotecnología*, 20(4), 31-37. doi:10.1612/inf.tecnol.4126it.08

Perdomo, F., Cabrera Fránquiz, F., Cabrera, J., & Serra-Majem, L. (2010). Influencia del procedimiento culinario sobre la biodisponibilidad. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 152-1246. doi:10.3305/nh.2012.27.5.5908

Porporatto, M. (s.f.). Importancias. (eozic, Editor) Obtenido de <https://importancias.com/tomate/>

Rakjumar, P., Kulanthaisami, S., Raghavan, G. S., Gariépy, Y., & Orsat, V. (2007). Drying Kinetics of Tomato Slices in Vacuum Assisted Solar and Open Sun. (L. Taylor & Francis Group, Ed.) *Drying Technology*, 25(7), 1349-1357. doi:10.1080/07373930701438931

SADER. (22 de Marzo de 2022). El jitomate, hortaliza mexicana de importancia mundial. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-jitomate-hortaliza-mexicana-de-importancia-mundial?idiom=es>

Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990). apid Extraction of Lycopene and B-Carotene from Reconstituted Tomato Paste and Pink Grapefruit Homogenates. *Journal of Food Science*, 55(5), 637-641.

Sáenz-Reyes, J. T., Muñoz-Flores, H. J., Ruíz-Rivas, M., Rueda-Sánchez, A., Castillo-Quiróz, D., & Castillo-Reyes, F. (2022). Diagnóstico del cultivo de lenteja en unidades de producción familiar en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 35-44.

SAGARPA. (2017). Jitomate Mexicano. Secretaría de Agricultura. Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>

SIAP. (07 de Octubre de 2020). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>

SIAP. (2021). SAGARPA. Obtenido de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Soh, E., & Ferrand, H. (2022). Woodpile structural designs to increase the stiffness of mycelium-bound composites. *Materials and Desing*, 225: 111530. doi:10.1016/j.matdes.2022.111530

Taghi-Gharibzahedi, S. M., Mousavi, S. M., Mahdi-Jafari, S., & Faraji, K. (2012). PROXIMATE COMPOSITION, MINERAL CONTENT, AND FATTY ACIDS. *Chemistry of Natural Compounds*, 976-978.

Tilahun, S. P. (30 de April de 2017). Effect of ripening conditions on the physicochemical and antioxidant properties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Food science and biotechnology*, 26, 476-479. doi:<https://doi.org/10.1007/s10068-017-0065-7>

Trujillo Hernández, C. A. (2011). Determinación de la fracción indigerible y fibra dietética en frutas y verduras de mayor consumo en México. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec, Moleros. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/13340/Tesis%202011%20Cesar%20Arnulfo%20Trujillo%20Hernández.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Udahogora, M. (2012). Health benefits and bioactive, compounds in field peas, faba beans, and chickpeas. *Cereals and Pulses: Nutraceutical Properties and Health Benefits*, 199-215.

Worawoot, A., Athip, C., Jaturong, K., Kritsana, J., Sirasit, S., Tanut, W., . . . Nakarin, S. (2022). Amazing Fungi for Eco-Friendly Composite Materials: A Comprehensive Review. *Journal fungi for eco-friendly composite materials: a comprehensive review*, 8-842. doi:<https://doi.org/10.3390/jof8080842>

Yang, L. D. (2021). Material function of the mycelium-based biocomposite: a review. . *Frontiers*, 8, 737377. doi:[doi:10.3389/fmats.2021.737377](https://doi.org/10.3389/fmats.2021.737377)

Yang, L., Park, D., & Zhao, Q. (2021). Material Function of Mycelium-Based Bio-Composite: A Review. *Frontiers in materials*, 8, 737377. doi:<https://doi.org/10.3389/fmats.2021.737377>

Yara. (2023). Producción mundial de tomates. Obtenido de *Nutrición vegetal: Tomate*: <https://www.yara.com.mx/nutricion-vegetal/tomate/produccion-mundial-de-tomates/>

EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES DE LA PLANTA PALO DE BRASIL (*HAEMATOXYLUM BRASILETTO*)

Grethel Peña-Gomar¹, Esmeralda Hernández vázquez¹, Briseida Cancino Jiménez¹, Areli Yasmin Ruíz Ramos¹ y Anayeli Ortiz Jiménez¹, MaryCarmen Peña-Gomar²

¹Universidad Politécnica de Chiapas, ²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
gpena@upchiapas.edu.mx

RESUMEN

La planta *Haematoxylum brasiletto* conocida como palo de Brasil, palo de tinta, azulillo, es una planta originaria de México. Se encuentra distribuida en diferentes estados como Sonora, Baja California, Oaxaca, Campeche entre otros y Chiapas. Es altamente valorada como madera de aserrío y ha sido exportada en grandes cantidades desde el oeste de México. Se ha utilizado tanto la corteza, madera o tronco para tratar afectaciones cardiovasculares, digestivas, renales y deficiencias nutrimentales. Se ha identificado la presencia de compuestos antioxidantes y fenólicos, diversos estudios han demostrado que tener efecto antimicrobiano. Por ello, en este estudio se realizó la extracción de compuestos polifenoles a partir de la corteza, mediante el empleo de diferentes solventes, con el objetivo de obtener un extracto de taninos para desarrollar un producto innovador. El estudio se llevó a cabo en la Universidad Politécnica de Chiapas, las muestras fueron obtenidas en la región.

La corteza de la planta fue pulverizada antes del proceso de extracción. El proceso de extracción fue llevado a cabo en agitación constante a temperatura menor a 60°C para evitar la degradación de los taninos. Se utilizaron dos solventes, agua y etanol. Una vez terminada la extracción se filtró mediante papel filtro, el extracto acuoso obtenido se colocó en estufa por 2 horas a 60°C para reducir el contenido de agua. El residuo obtenido, es el extracto total y se calculó por gravimetría, para la determinación de taninos y pureza se efectuaron los siguientes cálculos: $\text{Taninos (\%)} = \frac{\text{sólidos solubles} - \text{material no curtiente}}{\text{pureza de taninos}} \times 100$. El sureste mexicano cuenta con una riqueza de plantas con principios activos que tienen propiedades benéficas para la salud, que aún no han sido estudiadas de forma extensiva.

INTRODUCCIÓN

La planta de *Haematoxylum brasiletto*, comúnmente conocida como palo de Brasil o tinto, es una planta nativa de América Central y del sur de México. Se encuentra distribuida principalmente en los estados de sureste: Oaxaca, Campeche y Chiapas (Figura 1). El nombre "brasiletto" se deriva de la palabra portuguesa "brasil" que significa "brasileño", debido al intenso color rojo que se obtiene de su corteza. Esta planta es famosa por su uso ancestral como tinte natural, así como por sus propiedades medicinales en la medicina tradicional.



Figura 1. Distribución en México de *Haematoxylum brasiletto*

El palo de Brasil, es un árbol de tamaño mediano que puede alcanzar una altura de hasta 10 metros. Sus hojas son pinnadas y poseen pequeñas flores amarillas que se agrupan en racimos (Figura 2). Sin embargo, es su corteza lo que ha sido ampliamente aprovechada a partir de la extracción acuosa, se obtiene un pigmento rojo intenso que ha sido utilizado como colorante para textiles, pinturas y tintas.

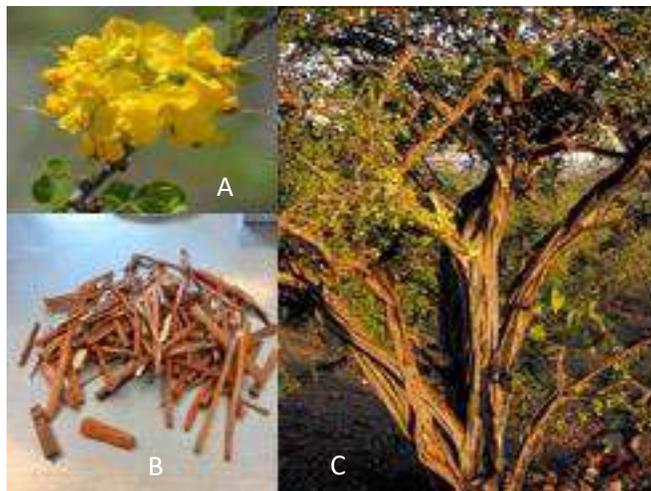


Figura 2. Planta de *Haematoxylum brasiletto*. A. flores; B. corteza; C. árbol

Además de su uso como tinte, *Haematoxylum brasiletto* también ha sido valorado en la medicina tradicional. Se cree que tiene propiedades astringentes, antiinflamatorias y antiparasitarias. Se ha utilizado para tratar diversas afecciones, como problemas gastrointestinales, infecciones de la piel y enfermedades de las encías.

Se han reportado la presencia de principios activos en esta planta, tales como flavonoides y taninos clasificados como polifenoles (Bello- Martínez, *et al.* 2021). Estos compuestos, han demostrado tener actividad biológica y actúan como antioxidantes, protegiendo las células contra el daño causado por

los radicales libres y el estrés oxidativo. También se han identificado alcaloides (lucidina) con capacidad antiinflamatorias y antimicrobianas; así como la presencia de quinonas con capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias y hongos (Rivero-Cruz, 2008). También se han estado desarrollando estudios sobre la capacidad antiproliferativa o antitumoral, con el objetivo de inhibir la proliferación celular, y detener de esta manera, la propagación de células cancerosas, promoviendo la muerte celular programada (apoptosis) en las células anormales (Bello- Martínez, *et al.* 2017).

Las plantas medicinales son una fuente potencial de metabolitos secundarios, que tienen múltiples aplicaciones y que han sido utilizadas a lo largo del tiempo, inclusive hoy en día para disminuir la sintomatología de algunas de sus enfermedades. Las plantas son consideradas también, como una importante fuente de compuestos bioactivos, que pueden ser utilizados como estrategias terapéuticas, debido a que sus componentes químicos proporcionan la base para la síntesis de productos farmacéuticos (Mark, 2004).

Existen diferentes métodos de extracción de polifenoles, entre los que se encuentran la extracción con disolventes orgánicos, como el metanol y etanol. También se encuentra la extracción asistida por ultrasonido y la extracción con fluidos supercríticos, siendo éstos últimos los de mayor sensibilidad, sin embargo, requieren más complejos y de alto costo.

Por ello, el objetivo de este estudio es identificar una metodología de extracción de polifenoles de la planta de *Haematoxylum brasiletto* a bajo costo, que permita la obtención de un extracto con el mayor contenido de polifenoles; en una segunda etapa del proyecto, se evaluará la capacidad antioxidante y antimicrobiana del extracto seleccionado.

TEORÍA

Los polifenoles son compuestos químicos presentes en una amplia variedad de plantas, representan un extenso grupo de sustancias no energéticas, de por lo menos 10 000 compuestos diferentes, los cuales contienen entre uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo que se encuentran unidos a ellos. Diversos estudios han demostrado que una dieta rica en polifenoles de origen vegetal, puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Schroeter, *et al.* 2006). Los polifenoles son compuestos naturales que se han relacionado con una serie de beneficios para la salud humana. De acuerdo a la revisión de Quiñones en el 2012, acerca de las propiedades benéficas de los polifenoles a la salud, consideró que los “ efectos benéficos de los polifenoles a nivel cardiovascular, son consecuencia de sus propiedades antioxidantes que pueden usualmente justificar sus acciones vasodilatadoras y vasoprotectoras, así como sus acciones antitrombóticas, antilipémicas, antiateroscleróticas, antiinflamatorias y antiapoptóticas”

Los estudios han identificado varios polifenoles en *Haematoxylum brasiletto*, incluidos flavonoides y taninos. Estos compuestos han demostrado tener propiedades antioxidantes, lo que significa que pueden ayudar a proteger las células del daño causado por los radicales libres y reducir el estrés oxidativo en el cuerpo.

Además de su actividad antioxidante, los polifenoles de *Haematoxylum brasiletto* han demostrado tener propiedades antiinflamatorias. Se ha observado que estos compuestos pueden inhibir la producción de moléculas proinflamatorias, lo que los convierte en posibles agentes terapéuticos para tratar enfermedades relacionadas con la inflamación. Otro aspecto interesante de los polifenoles de *Haematoxylum brasiletto* es su potencial antimicrobiano. Se ha encontrado que ciertos polifenoles presentes en la planta tienen actividad contra diferentes tipos de bacterias y hongos, lo que sugiere su posible uso en el tratamiento de infecciones.

En resumen, los polifenoles de *Haematoxylum brasiletto* son compuestos químicos con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas. Estos polifenoles pueden contribuir a los beneficios para la salud asociados con el consumo o el uso de extractos de esta planta. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la investigación sobre los polifenoles de *Haematoxylum brasiletto* aún está en curso, y se necesitan más estudios para comprender completamente su potencial y aplicaciones en el campo de la salud.

Existen varios métodos de extracción de polifenoles, y su elección depende de varios factores, como la naturaleza de la muestra, los objetivos de la extracción y las características deseadas de los polifenoles. Algunos de los métodos de extracción más utilizados son:

- Extracción con disolventes orgánicos: Este método implica el uso de disolventes orgánicos, como metanol o etanol, para extraer los polifenoles. La muestra se macera o se somete a extracción en caliente con el disolvente, y luego se realiza una separación de la fase líquida y la fase sólida para obtener el extracto enriquecido en polifenoles (Naranjo, 2016). El método de Soxhlet es el método más utilizado para las extracciones con solventes polares.
- Extracción asistida por ultrasonido: La extracción asistida por ultrasonido utiliza ondas ultrasónicas para facilitar la ruptura de las células vegetales y aumentar la eficiencia de la extracción. El sonido de alta frecuencia causa la formación y colapso de burbujas en el medio de extracción, lo que mejora la liberación de los compuestos deseados (Yang *et al.* 2014).
- Extracción con fluidos supercríticos: Los fluidos supercríticos, como el dióxido de carbono, se utilizan como solventes en este método de extracción. Bajo ciertas condiciones de temperatura y presión, el dióxido de carbono alcanza un estado supercrítico con propiedades de disolución similares a un líquido y una alta difusividad como un gas. Esto permite una extracción eficiente de los polifenoles (Jia-Jiuan *et al.* 2009)
- Extracción con agua: La extracción con agua, también conocida como extracción acuosa, se utiliza para extraer polifenoles solubles en agua. Puede involucrar métodos como maceración en frío, calentamiento o extracción en caliente, donde el agua se utiliza como disolvente principal para obtener el extracto de polifenoles.

Los compuestos fenólicos están sujetos a la degradación debido a las reacciones de oxidación, el cual es uno de los factores de mayor impacto en el rendimiento de extracción y uno de los factores que potencia su degradación son las altas temperaturas. Temperaturas mayores de 70°C producen una rápida degradación de antiocianinas aunado a largos periodos de extracción.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó la corteza de la planta de Palo de Brasil, obtenida de la región del estado de Chiapas. La corteza de la planta fue reducida en tamaño, antes del proceso de extracción (Figura 3). Se determinó la humedad de la muestra mediante la técnica de termobalanza. Se utilizó 15.83 g de corteza de la planta en 250 mL de solvente, para la hidrólisis acuosa y etanólica. El solvente de etanol se utilizó al 70%.



Figura 3. Corteza de Palo de Brasil utilizada para los procesos de hidrólisis

El proceso de extracción fue llevado a cabo en agitación constante a temperatura menor a 60°C para evitar la degradación de los taninos. En la hidrólisis etanólica se utilizaron dos temperaturas 40 y 60°C durante 1 hora en agitación constante. Una vez terminada la extracción se filtró y el extracto acuoso obtenido se colocó en estufa por 2 horas a 60°C para reducir se redujo el contenido de solvente. Los extractos obtenidos se almacenaron en recipientes de vidrio y en envases de plástico (Figura 4).



Figura 4. Extractos de polifenoles de la planta de Palo de Brasil

Una vez obtenido los extractos, se determinaron los valores de pH y densidad. En la segunda etapa del proyecto se contempla la determinación de polifenoles mediante la técnica de espectroscopia UV-Vis con el reactivo de Folin-Ciocalteu.

RESULTADOS

El %humedad de la corteza de *Haematoxylum brasiletto* utilizada para realizar los procesos de hidrólisis fue de 9.24%. Se obtuvieron extractos en tratamientos de hidrólisis acuosa y etanólica, en los cuales se determinó el pH y densidad de cada uno de los extractos obtenidos (Figura 5).



Figura 5. Determinación de pH (a) , humedad (b) y acidez titulable (c) de los extractos de polifenoles de la planta de palo de Brasil

Los valores de pH de todos los extractos oscilan entre 4 y 5 de pH y la densidad oscilo entre 1.05 y 1.1 entre todos los extractos. La coloración obtenida de todos los extractos fue de color marrón siendo los más intensos los extractos obtenidos por la hidrólisis con etanol.

CONCLUSIONES

A medida que se reconoce cada vez más, la importancia de las plantas medicinales y los recursos naturales, *Haematoxylum brasiletto* ha despertado un gran interés por la presencia de los compuestos activos que se han encontrado, tanto por su capacidad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria y antiproliferativa. Sin embargo el proceso de extracción de estos compuestos a baja escala, a bajo costo es un área de oportunidad que es necesario abordar y de esta manera explorar su potencial en el desarrollo de nuevos fármacos y productos naturales,

BIBLIOGRAFÍA

1. Global Core Biodata Resource GBIF is a Global Core Biodata Resource
2. *Haematoxylum brasiletto* H.Karst. in GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-05-15.
3. Bello Martinez , J; Vidal Gutierrez , M; Roses Acevedo, J.L , Avila Knight , LP , Navarro Tito, N. , Torres Guzman , F. , & Robles Zepeda , RE (2021). Actividades biológicas de las fracciones orgánicas de *Ficus obtusifolia* y *Haematoxylum brasiletto* . *Farmacología en línea* , 1 , 306–312.
4. J. Fausto Rivero-Cruz, (2008). Antimicrobial compounds isolated from *Haematoxylon brasiletto*. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 119, Issue 1, 99-103.

5. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, Sies H, Kwik-Urbe C, Schmitz HH, Kelm M. (2006). Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*; 103: 1024-1029.
6. Quiñones, M. Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2012;27(1):76-89
7. Naranjo Martínez, J. N. (2016). Evaluación de dos métodos para la obtención de extractos con actividad antioxidante a partir de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) con aplicación en productos mínimamente procesados. (Trabajo Fin de Graso, Universidad De La Salle).
8. Jia-Jiuan W, Jung-Chuan L, Chih-Hung W, Ting-Ting J, Hsing-Ling Y, Shi-Lan H, Chieh-ming JC (2009). Extraction of antioxidative compounds from wine lees using supercritical fluids and associated anti-tyrosinase activity. *J Supercrit Fluids* 50:33–41

ELABORACIÓN DE CREMA DE CACAHUATE A BASE DE SUSTITUTOS DE ENDULZANTES NATURALES

Anahí de la Rosa Delgado¹, Ileana Jaqueline Chavarría Leyva², Melissa de la Cruz de León³, Juan Carlos Reyna Arizpe⁴, Guadalupe Esmeralda Alcalá González⁵, Perla Mayara Alcalá González⁶

Tecnológico Nacional de México/ ITES de la Región Carbonífera.
2228@rcarbonifera.tecnm.mx

RESUMEN

En el presente trabajo se muestra una investigación con el fin de encontrar un endulzante saludable para la correcta elaboración de crema de cacahuete, sustituyendo los azúcares, utilizando como principales ingredientes naturales, miel y Stevia, para obtener resultados en nuestra investigación dentro del experimento, necesitamos saber cuál es el ingrediente apropiado para obtener la correcta consistencia y sabor. Por lo que utilizamos un diseño factorial completo con 2 réplicas y un análisis a través de herramientas estadísticas como es el ANOVA para la toma de decisión asertiva. Esta propuesta representará beneficios a la salud ya que será 100% natural, a base de productos naturales de calidad para su elaboración como lo es el cacahuete natural sin sal adicionada, libre de preservantes o aditivos. Ofreciendo una opción saludable de alimento bajo en calorías, en azúcares, grasas saturadas, sodio y que contenga un mayor aporte nutrimental.

INTRODUCCIÓN

La presente investigación tiene como propósito encontrar un endulzante natural para la elaboración de crema de cacahuete, utilizando como ingredientes principales la miel y la Stevia. Se busca evaluar el impacto de estos sustitutos en las variables de salida, centrándonos específicamente en la consistencia y el sabor del producto final. En comparación con otros productos similares disponibles en el mercado, nuestra crema de cacahuete se distingue por ser 100% natural y nutritiva, evitando el uso de azúcares procesados y conservadores. Nuestro objetivo principal es ofrecer a las personas un alimento rico, saludable y de alta calidad, con el fin de contribuir a la reducción de los casos de obesidad y promover un estilo de vida más saludable. La crema de cacahuete elaborada a partir de endulzantes naturales proporciona energía al organismo y cuenta con un alto contenido de fibra y proteína, lo cual favorece la salud cardiovascular y ayuda a controlar los niveles de glucemia. Al aprovechar al máximo las propiedades de los ingredientes utilizados, buscamos maximizar el valor nutricional de nuestro producto. Para alcanzar nuestros objetivos, se realizó a cabo una investigación científica basada en actividades experimentales. Se empleó el diseño factorial completo con 2 réplicas y se realizará un análisis estadístico utilizando herramientas como el ANOVA. De esta manera, podremos determinar las condiciones ideales para la elaboración de la crema de cacahuete natural.

TEORÍA

La búsqueda de un sustituto de azúcar para la fabricación de crema de cacahuete es de vital importancia para garantizar la satisfacción del consumidor, así como fomentar la salud y reducir los riesgos asociados al consumo excesivo de azúcar y conservadores. En la actualidad, muchos productos disponibles en los centros comerciales contienen niveles elevados de azúcares, sodio y conservadores, lo que representa un riesgo para la salud y puede contribuir al desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Es fundamental ofrecer a los consumidores una alternativa más

saludable, que proporcione un alto contenido nutricional y energético, aprovechando al máximo los nutrientes presentes en la crema de cacahuete. Al buscar un sustituto de azúcar, se busca encontrar un ingrediente que pueda proporcionar dulzor sin comprometer la calidad y el sabor del producto final.

PARTE EXPERIMENTAL

En el presente estudio, se llevó a cabo un Diseño Factorial completo con 2 réplicas. La población objeto de estudio consistió en un total de 16 pruebas, cada una de las cuales fue replicada dos veces. El objetivo de utilizar un Diseño Factorial completo fue explorar el efecto de múltiples variables independientes en las respuestas o variables dependientes. En este caso, se buscó evaluar el impacto de diferentes factores en la crema de cacahuete, tales como el tipo de endulzante utilizado, tiempo de tostado, el sabor del producto final y consistencia. Para garantizar la validez y la confiabilidad de los resultados, se replicaron todas las pruebas en trece ocasiones. Esto permitió obtener información más precisa y consistente, así como reducir el margen de error experimental.

Tabla 1

Tabla de Diseño Factorial Completo con 2 réplicas y 13 pruebas

Pruebas	Factores			Respuestas	
	Cacahuete	Endulzante	Tiempo de tostado	Sabor	Consistencia
1	500	Miel	180	3	1
2	600	Miel	180	5	3
3	500	Stevia	180	4	4
4	600	Stevia	180	5	5
5	500	Miel	200	2	3
6	600	Miel	200	3	5
7	500	Stevia	200	4	5
8	600	Stevia	200	4	5
9	500	Miel	180	4	4
10	600	Miel	180	5	4
11	500	Stevia	180	5	5
12	600	Stevia	180	4	5
13	500	Miel	200	3	2

Fuente: Elaboración propia

El diseño factorial completo con 2 réplicas es un diseño experimental que implica la combinación de todos los niveles de cada factor en un estudio, y se realizan dos repeticiones de cada combinación. En este caso, se presenta una tabla de diseño factorial completo con 13 pruebas, lo que significa que hay 13 combinaciones diferentes de los niveles de los factores en el estudio.

Sabor

Al observar la Tabla 1, se puede notar que todos los factores, excepto el tiempo de tostado, presentan un valor de P-Value mayor a 0.05. Esto nos lleva a la conclusión de que el tiempo de tostado tiene un efecto significativo en la variable de salida del sabor.

RESULTADOS

Tabla 2

Análisis de varianza del sabor

Análisis de Varianza

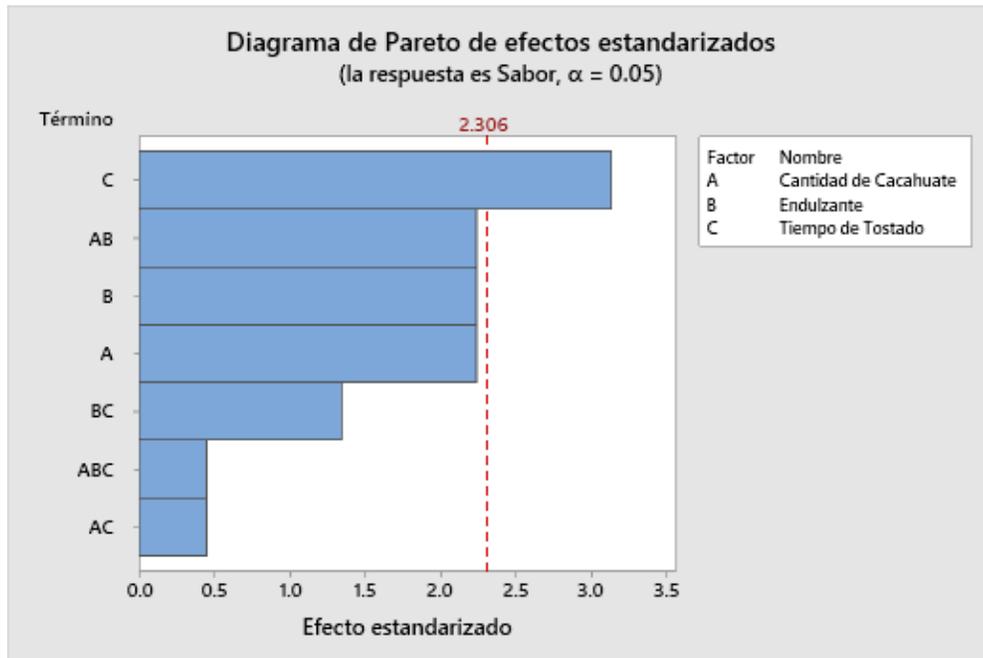
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
Modelo	7	8.4375	1.20536	3.86
Lineal	3	6.1875	2.06250	6.60
Cantidad de Cacahuate	1	1.5625	1.56250	5.00
Endulzante	1	1.5625	1.56250	5.00
Tiempo de Tostado	1	3.0625	3.06250	9.80
Interacciones de 2 términos	3	2.1875	0.72917	2.33
Cantidad de Cacahuate*Endulzante	1	1.5625	1.56250	5.00
Cantidad de Cacahuate*Tiempo de Tostado	1	0.0625	0.06250	0.20
Endulzante*Tiempo de Tostado	1	0.5625	0.56250	1.80
Interacciones de 3 términos	1	0.0625	0.06250	0.20
Cantidad de Cacahuate*Endulzante*Tiempo de Tostado	1	0.0625	0.06250	0.20
Error	8	2.5000	0.31250	
Total	15	10.9375		
Fuente	Valor p			
Modelo	0.039			
Lineal	0.015			
Cantidad de Cacahuate	0.056			
Endulzante	0.056			
Tiempo de Tostado	0.014			
Interacciones de 2 términos	0.150			
Cantidad de Cacahuate*Endulzante	0.056			
Cantidad de Cacahuate*Tiempo de Tostado	0.667			
Endulzante*Tiempo de Tostado	0.217			
Interacciones de 3 términos	0.667			
Cantidad de Cacahuate*Endulzante*Tiempo de Tostado	0.667			
Error				
Total				

Fuente: Elaboración propia

El valor de p, que representa la probabilidad de obtener un resultado igual o más extremo que el observado si la hipótesis nula es cierta, nos proporciona información sobre la significancia estadística de los resultados. En este caso, al tener un valor de p menor a 0.05, se rechaza la hipótesis nula y se acepta que el tiempo de tostado influye en el sabor del producto final de la crema de cacahuate.

Figura 1

Diagrama de Pareto, sabor



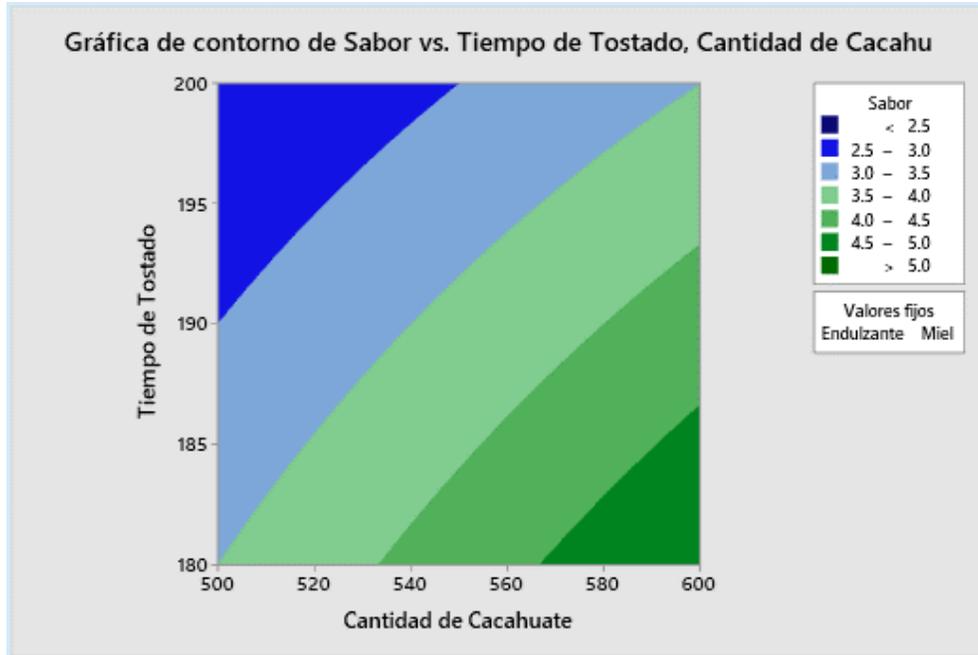
Fuente: Elaboración propia

El Diagrama de Pareto muestra los efectos estandarizados de diferentes variables o factores en el estudio. Los efectos estandarizados son una medida de la magnitud relativa de los efectos de cada variable en la variable de interés, teniendo en cuenta la variabilidad de los datos.

Al realizar el análisis de Pareto, se ha identificado que el factor más significativo que afecta la variable de salida del sabor en la crema de cacahuete es la Cantidad de Cacahuete. El diagrama de Pareto es una herramienta gráfica que permite identificar y priorizar los factores que contribuyen en mayor medida a un resultado o problema específico.

Figura 2.

Gráfica de contorno sabor



Fuente: Elaboración propia

Al analizar la Figura 2, la cual muestra la gráfica de contorno del sabor, se observa que se han establecido los endulzantes miel y Stevia como valores fijos. En esta representación gráfica, se busca identificar las combinaciones óptimas de la cantidad de cacahuete y el tiempo de tostado para obtener un resultado deseado en términos de sabor en la crema de cacahuete. Así mismo, se puede observar que un tiempo de tostado demasiado corto o largo puede afectar negativamente el sabor de la crema de cacahuete. Por lo tanto, se recomienda utilizar un tiempo de tostado intermedio para lograr un equilibrio entre el sabor deseado y las características sensoriales del producto.

Tabla 3

Corridas óptimas de la variable del Sabor.

Ajustes y diagnósticos para todas las observaciones

Obs	Sabor	Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	Resid	Resid est.	Resid elim.	AA	D de Cook	DFITS
1	3.000	3.500	0.395	(2.588, 4.412)	-0.500	-1.26	-1.32	0.5	0.20	-1.32288
2	5.000	5.000	0.395	(4.088, 5.912)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
3	4.000	4.500	0.395	(3.588, 5.412)	-0.500	-1.26	-1.32	0.5	0.20	-1.32288
4	5.000	4.500	0.395	(3.588, 5.412)	0.500	1.26	1.32	0.5	0.20	1.32288
5	2.000	2.500	0.395	(1.588, 3.412)	-0.500	-1.26	-1.32	0.5	0.20	-1.32288
6	3.000	3.500	0.395	(2.588, 4.412)	-0.500	-1.26	-1.32	0.5	0.20	-1.32288
7	4.000	4.000	0.395	(3.088, 4.912)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
8	4.000	4.000	0.395	(3.088, 4.912)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
9	4.000	3.500	0.395	(2.588, 4.412)	0.500	1.26	1.32	0.5	0.20	1.32288
10	5.000	5.000	0.395	(4.088, 5.912)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
11	5.000	4.500	0.395	(3.588, 5.412)	0.500	1.26	1.32	0.5	0.20	1.32288
12	4.000	4.500	0.395	(3.588, 5.412)	-0.500	-1.26	-1.32	0.5	0.20	-1.32288
13	3.000	2.500	0.395	(1.588, 3.412)	0.500	1.26	1.32	0.5	0.20	1.32288
14	4.000	3.500	0.395	(2.588, 4.412)	0.500	1.26	1.32	0.5	0.20	1.32288
15	4.000	4.000	0.395	(3.088, 4.912)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
16	4.000	4.000	0.395	(3.088, 4.912)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000

Fuente: Elaboración propia

Al analizar los resultados obtenidos, se puede observar que las corridas 2 y 10 son las óptimas en términos de los parámetros evaluados. Ambas corridas utilizaron una cantidad de cacahuete de 600 unidades, endulzante de miel y un tiempo de tostado de 180 segundos. Estas corridas destacan por su impacto positivo en la variable de interés, que en este caso es el sabor. Al seleccionar una mayor cantidad de cacahuete y un tiempo de tostado intermedio, se logra obtener un producto con una calidad sensorial óptima en términos de sabor.

Estos resultados respaldan nuestra propuesta de ofrecer un producto sabroso y saludable a los consumidores.

Tabla 4.
Predicción para sabor.

Predicción para Sabor

Cacahuate*Endulzante*Tiempo de Tostado

Configuración

Variable	Valor de configuración
Cantidad de Cacahuate	600
Endulzante	Miel
Tiempo de Tostado	180

Predicción

Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
5	0.395285	(4.08847, 5.91153)	(3.42119, 6.57881)

Configuración

Variable	Valor de configuración
Cantidad de Cacahuate	600
Endulzante	Miel
Tiempo de Tostado	180

Predicción

Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
5	0.395285	(4.08847, 5.91153)	(3.42119, 6.57881)

Fuente: Elaboración propia

Consistencia

Al analizar los resultados presentados en la Tabla 4, se observa que todas las variables evaluadas, a excepción del endulzante, presentan un valor de P-Value mayor a 0.05. Esto nos lleva a la conclusión de que el endulzante utilizado tiene un impacto significativo en la variable de salida consistencia.

Tabla 5.

Análisis de varianza de la consistencia

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
Modelo	7	15.0000	2.1429	2.45
Línea	3	13.2500	4.4167	5.05
Cantidad de Cacahuete	1	4.0000	4.0000	4.57
Endulzante	1	9.0000	9.0000	10.29
Tiempo de Tostado	1	0.2500	0.2500	0.29
Interacciones de 2 términos	3	1.5000	0.5000	0.57
Cantidad de Cacahuete*Endulzante	1	1.0000	1.0000	1.14
Cantidad de Cacahuete*Tiempo de Tostado	1	0.2500	0.2500	0.29
Endulzante*Tiempo de Tostado	1	0.2500	0.2500	0.29
Interacciones de 3 términos	1	0.2500	0.2500	0.29
Cantidad de Cacahuete*Endulzante*Tiempo de Tostado	1	0.2500	0.2500	0.29
Error	8	7.0000	0.8750	
Total	15	22.0000		

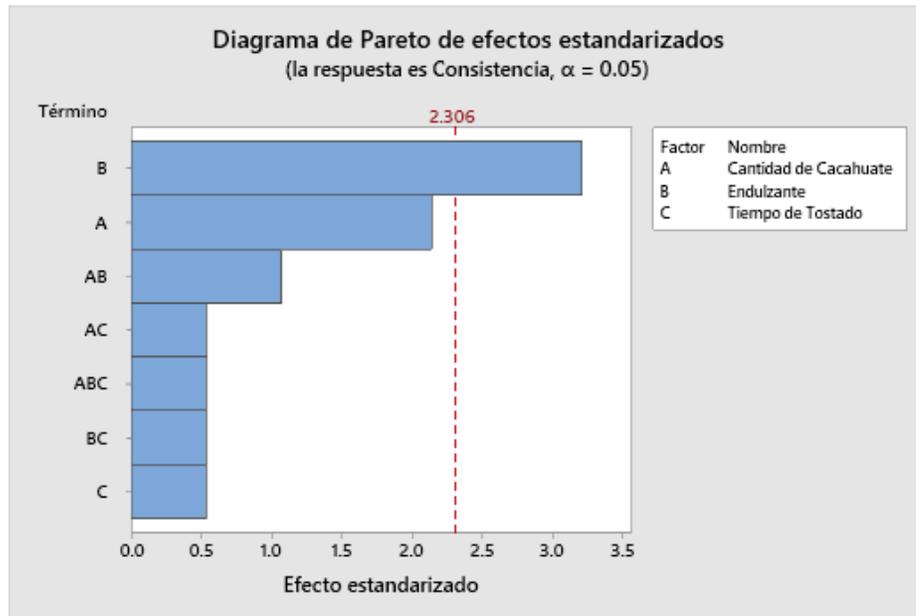
Fuente	Valor p
Modelo	0.116
Línea	0.030
Cantidad de Cacahuete	0.065
Endulzante	0.012
Tiempo de Tostado	0.608
Interacciones de 2 términos	0.649
Cantidad de Cacahuete*Endulzante	0.316
Cantidad de Cacahuete*Tiempo de Tostado	0.608
Endulzante*Tiempo de Tostado	0.608
Interacciones de 3 términos	0.608
Cantidad de Cacahuete*Endulzante*Tiempo de Tostado	0.608
Error	
Total	

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza (ANOVA) de la consistencia es una técnica estadística que se utilizó para evaluar si existen diferencias significativas en los niveles de consistencia entre diferentes grupos o condiciones. Al realizar un ANOVA de la consistencia, se obtienen dos valores importantes: el valor F y el valor P, como se muestra en la tabla 5, Indica la significancia estadística de los resultados del ANOVA. Si el valor P es menor que un nivel de significancia predefinido (generalmente 0.05 o 0.01), se considera que existen diferencias estadísticamente significativas en la consistencia entre los grupos analizados.

Figura 3.

Diagrama de Pareto de consistencia.

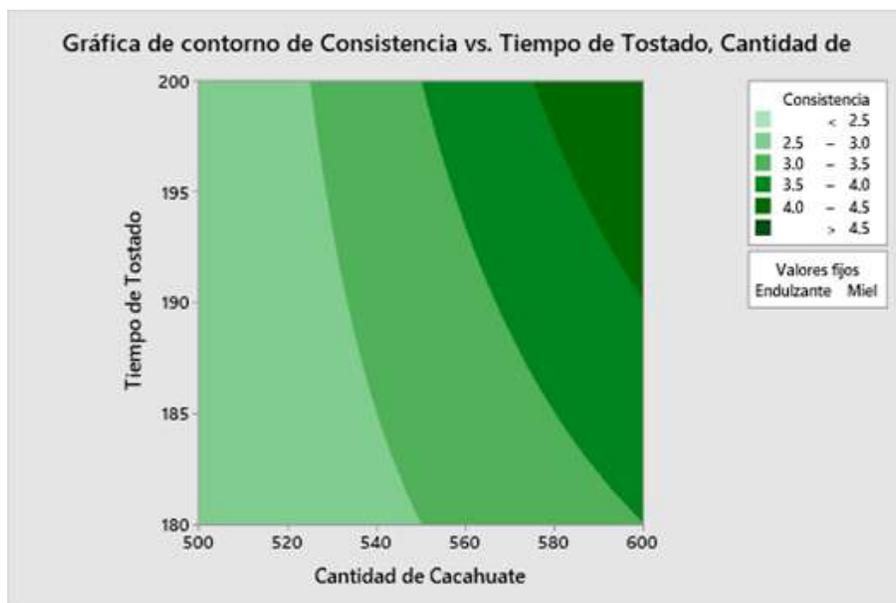


Fuente: Elaboración propia

El análisis identifica que, de todos los factores analizados, solo la Cantidad de Cacahuate tiene un impacto significativo en la variable de salida sabor. Esto significa que la cantidad de cacahuete utilizado tiene una influencia estadísticamente significativa en el sabor del producto o en la percepción del sabor por parte de los evaluadores. Los otros factores evaluados en el estudio no presentaron diferencias significativas en relación con la variable de sabor.

Figura 4.

Gráfica de contorno de consistencia.



Fuente: Elaboración propia

Como se muestra en la Figura 4, la gráfica de contorno de la consistencia nos proporciona información valiosa sobre los factores que influyen en esta variable. En este caso, los endulzantes utilizados fueron miel y Stevia, los cuales se mantuvieron como valores fijos en el experimento.

Al analizar la gráfica de contorno, se puede observar que, para lograr un resultado óptimo en términos de consistencia, es necesario aumentar tanto la cantidad de cacahuete como el tiempo de tostado. Esto significa que a medida que se incrementa la cantidad de cacahuete utilizado en la crema y se prolonga el tiempo de tostado, se obtiene una consistencia más deseada.

Tabla 6.
Corridas optimas de la variable de la Consistencia

Ajustes y diagnósticos para todas las observaciones

Obs	Consistencia	Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	Resid	Resid est.	Resid elim.	AA	D de Cook	DFITS
1	1.000	2.500	0.661	(0.975, 4.025)	-1.500	-2.27	-3.55	0.5	0.64	-3.54965
2	3.000	3.500	0.661	(1.975, 5.025)	-0.500	-0.76	-0.73	0.5	0.07	-0.73380
3	4.000	4.500	0.661	(2.975, 6.025)	-0.500	-0.76	-0.73	0.5	0.07	-0.73380
4	5.000	5.000	0.661	(3.475, 6.525)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
5	3.000	2.500	0.661	(0.975, 4.025)	0.500	0.76	0.73	0.5	0.07	0.73380
6	5.000	4.500	0.661	(2.975, 6.025)	0.500	0.76	0.73	0.5	0.07	0.73380
7	5.000	4.500	0.661	(2.975, 6.025)	0.500	0.76	0.73	0.5	0.07	0.73380
8	5.000	5.000	0.661	(3.475, 6.525)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
9	4.000	2.500	0.661	(0.975, 4.025)	1.500	2.27	3.55	0.5	0.64	3.54965
10	4.000	3.500	0.661	(1.975, 5.025)	0.500	0.76	0.73	0.5	0.07	0.73380
11	5.000	4.500	0.661	(2.975, 6.025)	0.500	0.76	0.73	0.5	0.07	0.73380
12	5.000	5.000	0.661	(3.475, 6.525)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000
13	2.000	2.500	0.661	(0.975, 4.025)	-0.500	-0.76	-0.73	0.5	0.07	-0.73380
14	4.000	4.500	0.661	(2.975, 6.025)	-0.500	-0.76	-0.73	0.5	0.07	-0.73380
15	4.000	4.500	0.661	(2.975, 6.025)	-0.500	-0.76	-0.73	0.5	0.07	-0.73380
16	5.000	5.000	0.661	(3.475, 6.525)	0.000	0.00	0.00	0.5	0.00	0.00000

Fuente: Elaboración propia

Las corridas 4 y 12, donde se utilizó una Cantidad de cacahuete de 600, Endulzante: Stevia y Tiempo de tostado de 180, junto con las corridas 8 y 16, donde se utilizó una Cantidad de cacahuete de 600, Endulzante: Stevia y Tiempo de tostado de 200, se identifican como las corridas óptimas. Estas combinaciones de factores fueron determinadas como las más favorables o deseables en relación con la variable de interés. En otras palabras, estas condiciones específicas de los factores mostraron los mejores resultados o desempeño en términos de la variable evaluada, ya sea sabor, calidad o cualquier otro criterio de optimización establecido.

Tabla 7

Predicción para consistencia.

Predicción para Consistencia

Configuración

Variable	Valor de configuración
Cantidad de Cacahuete	600
Endulzante	Stevia
Tiempo de Tostado	180

Predicción

Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
5	0.661438	(3.47472, 6.52528)	(2.35814, 7.64186)

Configuración

Variable	Valor de configuración
Cantidad de Cacahuete	600
Endulzante	Stevia
Tiempo de Tostado	200

Predicción

Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
5	0.661438	(3.47472, 6.52528)	(2.35814, 7.64186)

Fuente: Elaboración propia

Según la predicción realizada con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%), se estima que la consistencia para la configuración específica de Cantidad de cacahuete: 600, Endulzante: Stevia y Tiempo de tostado: 180 será de valor predicho. Este valor predicho tiene una confianza del 95% de caer dentro del intervalo de confianza (IC 95%) proporcionado. Esto significa que, con una probabilidad del 95%, se espera que la consistencia del producto se encuentre dentro de dicho intervalo, basándose en la configuración de los factores mencionados.

CONCLUSIONES

Nuestra propuesta de elaborar una crema de cacahuete utilizando sustitutos de endulzantes naturales representa una opción saludable y nutritiva para los consumidores. Al evitar el uso de azúcares procesados y conservadores, y al utilizar ingredientes naturales de calidad, como el cacahuete natural sin sal adicionada, hemos creado un producto que busca promover la salud y disminuir los riesgos asociados con el consumo excesivo de azúcar y aditivos. Durante el desarrollo de este proyecto, hemos aprendido mucho y adquirido nuevos conocimientos en diversas áreas. Hemos comprendido la importancia de realizar investigaciones científicas basadas en un proceso

experimental y utilizar herramientas estadísticas, como el diseño factorial completo y el análisis de varianza (ANOVA), para obtener resultados confiables y significativos.

BIBLIOGRAFÍA

1. López-Gómez, A., & Paredes-López, O. (2019). Maní: Tecnología de procesamiento y desarrollo de productos. En *Avances en el procesamiento y utilización del maní* (pp. 1-14). Academic Press.
 2. Chauhan, A., & Dixit, A. (2018). Estudio del procesamiento de la crema de cacahuate y optimización de los parámetros del proceso. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(3), 4427-4433.
 3. Manzoor, M. F., Anjum, F. M., Nawaz, H., & Saeed, M. (2015). Desarrollo y evaluación de la calidad de la crema de cacahuate. *Journal of Food Process Engineering*, 38(1), 48-57.
 4. Rahman, M. S., & Islam, M. N. (2017). Efectos de los parámetros de procesamiento en las características de calidad de la crema de cacahuate. *Journal of Food Science and Technology*, 54(10), 3311-3321.
- Kumar, P., Mishra, H. N., & Jha, A. (2017). Optimización de los parámetros del proceso para la producción de crema de cacahuate utilizando metodología de superficie de respuesta. *Journal of Food Science and Technology*, 54(5), 1261-1272.

CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN GUAYABA

Yuliza Guadalupe Morales Herrejón¹, Consuelo de Jesús Cortes Penagos¹, Berenice Yahuaca Juárez¹, María de Jesús Juárez Ayala¹, José Saúl Padilla Ramírez².

¹ Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, Tzintzuntzan 173, Col. Matamoros, C.P. 58240, Morelia, Michoacán. México. ²Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Pabellón, Km 32.5 carretera Aguascalientes – Zacatecas, C.P.20660, Pabellón de Arteaga, Aguascalientes. México. Correo-E: consuelo.cortes@umich.mx

RESUMEN

El consumo continuo de alimentos con alta actividad antioxidante, mejora la salud de la población en general, debido a su capacidad de neutralizar los efectos negativos de los radicales libres a los que se encuentra expuesto continuamente el cuerpo humano. Con base a los resultados obtenidos en frutos evaluados, se considera que su consumo en un régimen alimentario diario puede ayudar a mejorar la salud de las personas⁵. La guayaba (*Psidium guajava* L.), contiene compuestos químicos con actividad antioxidante que lo hacen atractivo para su consumo en fresco. El objetivo de este trabajo fue evaluar 16 germoplasmas de guayaba, provenientes del INIFAP, identificados con los códigos: L-1A-4, L-1A-8, L-1A-9, L-1A-13, L-3A-3, L-4A-21, L-5A-1, L-5A-4, L-6A-5, L-7A-11, L-10A-7, L-11A-17, L-12A-3, L-13A-2, L-13A-10, L-15A-8. Los frutos evaluados, se encontraban en el mismo estado de madurez (color de frutos verde-amarillo y firmeza dura al tacto). La actividad antioxidante se determinó en extractos de los frutos de guayaba, valorando la concentración de polifenoles; posteriormente a través de pruebas específicas como la concentración expresada en Trolox de la actividad antioxidante utilizando los radicales ABTS y DPPH. Los resultados de las determinaciones nos indican que, la concentración de polifenoles totales promedio de los 16 germoplasmas estudiados fue de 69.66 mg, la concentración más alta obtenida fue de 92.58 mg que corresponde al lote L-10A-7; y la menor concentración correspondió al germoplasma L-5A-4 (48.02 mg). Los polifenoles tienen un papel importante como antioxidante, entre ellos destaca el ácido gálico, el cual, además de ser un antirradical por excelencia, también presenta actividad contra bacterias, virus y hongos. Así mismo, este ácido actúa como un quelante sobre metales como el cobre o el plomo para ser excretados del cuerpo⁴. Los porcentajes inhibición de los radicales libres sintéticos de referencia (ABTS y DPPH), de los frutos estudiados, son los siguientes: el ABTS tiene más de un 10% de inhibición con respecto a DPPH derivado de la actividad antioxidante de los germoplasmas analizados. Para ABTS, los valores van de 98.95% para L-13A-2, y 91.86% para L-5A-4; para DPPH, 66.89% para L-5A-4 y 88.22% para L-1A-4. Concluimos que, existen diferencias significativas entre las características propias de los 16 germoplasmas analizados, demostrando así la amplia variabilidad que presenta *Psidium guajava* L.; este fruto, por su alto contenido de polifenoles, capacidad antioxidante, se considera un excelente alimento altamente recomendable como parte de una dieta balanceada, que apoya en la prevención de enfermedades causadas por estrés oxidativo¹⁰.

INTRODUCCIÓN

El aumento de enfermedades crónico-degenerativas, ha propiciado el estudio de ciertos alimentos destinados para consumo humano que contienen, dentro de sus nutrimentos, ciertos compuestos químicos, los cuales cuentan con la capacidad de neutralizar la acción de los radicales libres bloqueando el daño a las células del organismo y, por consiguiente, disminuyen la probabilidad del desarrollo de enfermedades cardiovasculares, estas moléculas son denominadas antioxidantes¹.

La guayaba provee, desde el punto de vista nutricional vitaminas A, B y C, además de minerales como calcio, fósforo, hierro, entre otros⁸. También aporta una alta concentración de agentes

antioxidantes destacando el ácido ascórbico, polifenoles, carotenoides, necesarios para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS), evitando el daño a moléculas complejas (ADN, proteínas, etc.) en el cuerpo humano, disminuyendo el riesgo de desarrollar enfermedades crónico-degenerativas como cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, insuficiencia renal aguda y crónica¹⁰.

La evaluación de agentes antioxidantes en los frutos es de especial interés en la industria, la producción, comercialización y preservación de variedades frutícolas con las mejores características físicas y nutrimentales, así como para el mejoramiento fitogenético a beneficio de la salud de la población³.

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico. Frutos de 16 germoplasmas que se obtuvieron del banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), que se encuentra ubicado en la región “Calvillo-Cañones” en la zona experimental “los cañones” en Huanusco, Zacatecas (21° 44.7'; 102° 58.0' y 1508 msnm). El material biológico estudiado, se identificó con los siguientes códigos: L-1A-4, (figura 1), L-1, A-8 (figura 2), L-1, A-9 (figura 3), L-1, A-13 (figura 4), L-3, A-3 (figura 5), L-4, A-21 (figura 6), L-5, A-1 (figura 7), L-5, A-4 (figura 8), L-6, A-5 (figura 9), L-7, A-11 (figura 10), L-10, A-7 (figura 11), L-11, A-17 (figura 12), L-12, A-3 (figura 13), L-13, A-2 (figura 14), L-13, A-10 (figura 15), L-15, A-8 (figura 16). Los germoplasmas fueron conservados in situ, el estado de madurez en que se recolectaron los germoplasmas se basó en un color de frutos verde-amarillo y de firmeza dura al tacto, posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Investigación en Biotecnología de la Facultad de Químico Farmacobiología UMSNH, ubicado en Morelia, Michoacán.



Figura 1. Fruto de guayaba, Código: L-1, A-4.



Figura 2. Fruto de guayaba, Código: L-1, A-8.



Figura 3. Fruto de guayaba, Código: L-1, A-9.



Figura 4. Fruto de guayaba, Código: L-1, A-13.

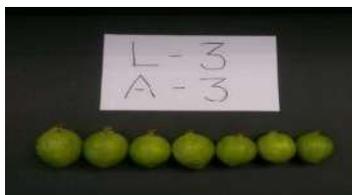


Figura 5. Fruto de guayaba, Código: L-3, A-3.



Figura 6. Fruto de guayaba, Código: L-4, A-21.



Figura 7. Fruto de guayaba,

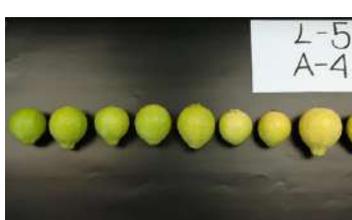


Figura 8. Fruto de guayaba,



Figura 9. Fruto de guayaba,

Código: L-5, A-1.



Figura 10. Fruto de guayaba, Código: L-7, A-11.

Código: L-5, A-4.



Figura 11. Fruto de guayaba, Código: L-10, A-7.

Código: L-6, A-5.

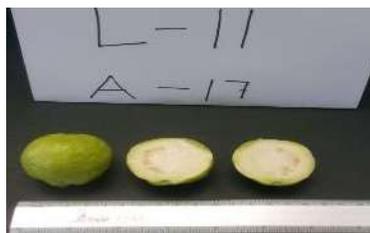


Figura 12. Fruto de guayaba, Código: L-11, A-17.



Figura 13. Fruto de guayaba, Código: L-12, A-3.



Figura 14. Fruto de guayaba, Código: L-13, A-2.

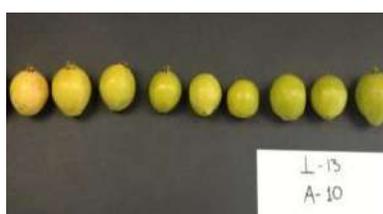


Figura 15. Fruto de guayaba, Código: L-13, A-10.



Figura 16. Fruto de guayaba, Código: L-15, A-8.

Determinación de Vitamina C

La vitamina C se determinó utilizando la metodología de la A.O.A.C 43.056. 1988, se pesaron 2.5 gramos de muestra de guayaba de cada germoplasma, con una solución de ácido acético glacial-ácido metafosfórico y agua se realizó la extracción de ácido ascórbico, se homogeneizó y posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos, empleando el sobrenadante se procedió a realizar un análisis volumétrico con una solución colorante de 2,6-diclorofenol indofenol (autoindicador) hasta la aparición de un color rosa pálido que persistió por 30 segundos. Los resultados se expresaron en miligramos de vitamina C por cada 100 gramos de muestra.

Se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{mg de vitamina C/100g muestra} = ((X-B) * (F/E) * (V/Y)) * 100$$

Donde:

X= ml de 2-6 diclorofenol-indofenol gastados por muestra

B= ml de 2-6 diclorofenol-indofenol gastados por la sln. De extracción (0.1ml)

F= mg de ácido ascórbico equivalente a 1 ml de sln. Estándar de 2-6 diclorofenolindofenol (0.095ml)

E= peso o volumen de la muestra ensayada (en gramos o mililitros)

V= volumen inicial de la muestra ensayada Y= volumen de la alícuota ensayada

Cuantificación de Polifenoles totales

Para la determinación de polifenoles totales se empleó el método descrito por FolinCiocalteu utilizando solución madre, de la cual se tomaron alícuotas de 100 microlitros, posteriormente se adicionaron en el siguiente orden: 7600 microlitros de agua destilada, 500 microlitros de reactivo de Folin-Ciocateau y 2000 microlitros de carbonato de sodio al 20 %; se reposaron en ausencia de luz por un periodo de 2 horas. Se registró la absorbancia a una longitud de onda de 765nm en un espectrofotómetro UV/Vis Smartec Plus marca Bio-rad, se usó ácido gálico como estándar para la curva de calibración. Los resultados se expresaron como miligramos de ácido gálico por cada 100 gramos de muestra, empleando la fórmula obtenida a partir de la curva de calibración ($X=Y-0.0252/0.1294$).

Actividad antioxidante de guayaba de los distintos germoplasmas

La actividad antioxidante de los frutos de guayaba se realizó utilizando dos metodologías: ABTS y DPPH, para llevar a cabo dichos métodos se realizó en primer término la extracción de compuestos, solución a la que se denominó solución madre. En los siguientes apartados se describe la metodología utilizada.

Extracción de compuestos (solución madre)

Para llevar a cabo la evaluación de la actividad antioxidante de los frutos de guayaba se realizó la extracción de compuestos, consistió en dos extracciones, la primera utilizando una solución con metanol/agua en proporción 50:50 y acidificado a pH 2, posteriormente se agitó y centrifugó a 5000 rpm, en la segunda extracción se empleó una solución de acetona/agua (70:30), repitiendo el mismo procedimiento usado en la primera extracción, los sobrenadantes se mezclaron y aforaron con agua destilada a 100 ml, finalmente se almacenaron a una temperatura de -20°C.

Determinación de la actividad antioxidante por ABTS

Para llevar a cabo la valoración de ABTS se empleó el método RE y col. 1999 y descrita por KUSKOSKI y col. 2004 preparando una solución de ácido 2,2-azinobis-(3etibenzotiazolin-6-sulfónico) 7mmol y persulfato de potasio 2.45 mmol, se dejó reposar a 4 °C durante 12 horas. Posteriormente se adicionó etanol hasta obtener una absorbancia de 0.700 +/- 0.02. Se tomaron 30 µL de solución de extracción (ver apartado 6.5.4), y se le adicionaron 970 µL del radical ABTS. Las absorbancias fueron medidas a 734 nm pasados 6 minutos de reacción en ausencia de luz. Los resultados se reportaron en µmol equivalentes a Trolox por cada 100 gramos de muestra, usando Trolox como patrón en la curva de calibración.

Se utilizó la siguiente fórmula: $X = (0.6763 - Y) / 0.0706$

Donde:

X=Concentración equivalente a Trolox

Y=Absorbancia de la muestra.

% Inhibición= ((Abs Inicial-Abs final)/Abs inicial)*100.

Determinación de la Actividad Antioxidante por DPPH

La actividad antioxidante determinada por DPPH se realizó con base en la metodología de Brand-Williams, et al (1995), se tomaron 3.8 ml de radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) con una concentración de 100 µmol, posteriormente se les adicionaron 200 µL de solución extractora. La absorbancia se midió a 536 nm posterior a 1 hora en reposo en ausencia de luz. Se utilizó Trolox como estándar en la curva de calibración, los resultados se expresaron en µmol equivalentes a Trolox por cada 100 gramos de muestra.

Se utilizó la siguiente fórmula: $X = (1.0828 - Y) / 0.1793$

Donde:

X=Concentración equivalente a Trolox

Y=Absorbancia de la muestra.

% Inhibición= ((Abs Inicial-Abs final) /Abs inicial) *100.

Diseño experimental y análisis estadístico.

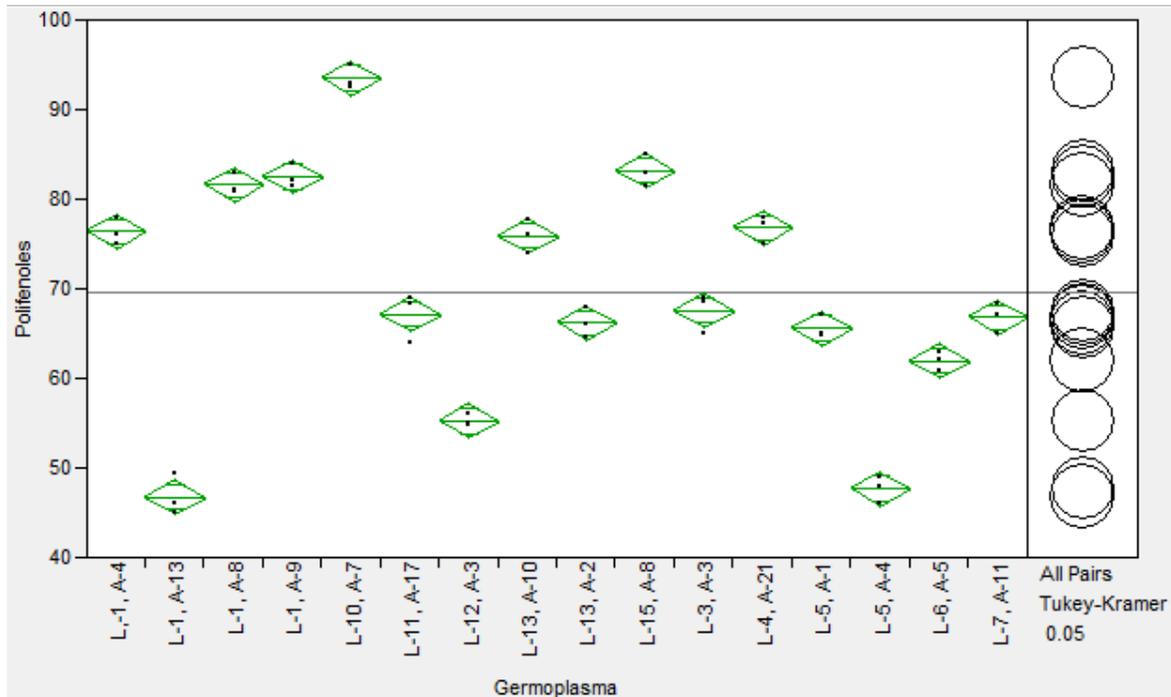
El diseño estadístico de los germoplasmas evaluados fue completamente al azar con tres repeticiones. Las variables de respuesta fueron: ácido ascórbico, polifenoles totales, capacidad antioxidante (ABTS y DPPH). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con prueba de Tuckey-Kramer a P ≤ 0.05. Con la finalidad de establecer la relación entre las variables de respuesta se hizo un análisis de correlación múltiple. El análisis estadístico se realizó utilizando el software JMP 6 de SAS.

RESULTADOS

Polifenoles totales en frutos de guayaba

El desequilibrio provocado por la presencia de moléculas oxidantes es causante de la muerte celular en el cuerpo humano. No obstante, las sustancias fenólicas que comprenden una parte de los nutrimentos obtenidos de las frutas y hortalizas tienen un papel importante debido a su acción antioxidante disminuyendo la probabilidad de sufrir enfermedades cardiovasculares al captar radicales libres².

En la **gráfica 1**, se presenta la concentración de polifenoles totales donde podemos observar que la media obtenida de los 16 germoplasmas estudiados fue de 69.66 mg, la concentración más alta obtenida fue del lote 92.58 mg que corresponde al lote L-10, A-7; y la menor concentración correspondió al germoplasma L-5, A-4 (48.02 mg). En estos resultados se obtuvieron diferencias estadísticas significativas (r²=0.9882 y P<0.001) entre los 16 germoplasmas analizados.



Gráfica 1. Comparación del análisis de varianza (ANOVA) del contenido de polifenoles de 16 germoplasmas.

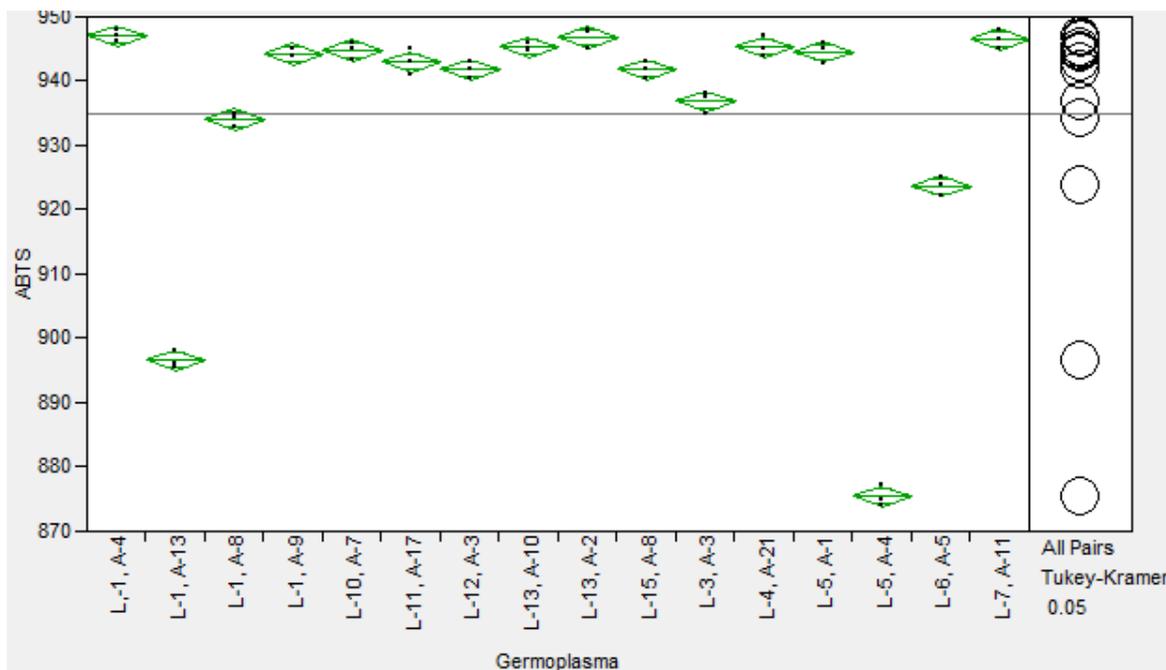
Los polifenoles tienen un papel importante dentro de los antioxidantes, entre ellos destaca el ácido gálico, el cual, además de ser un antirradical por excelencia, también presenta actividad contra bacterias, virus y hongos. Así mismo este ácido actúa como un quelante sobre metales como el cobre o el plomo para ser excretados del cuerpo⁴.

De acuerdo con los resultados obtenidos por Naksuriya⁹, la presencia de polifenoles como el ácido gálico en combinación con otros antioxidantes como la vitamina C y E, o algunos compuestos como la curcumina presentan efectos sinérgicos en su capacidad antioxidante.

Cuantificación de la actividad antioxidante de guayaba por ABTS

Los radicales libres como el 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), es utilizado al igual que el DPPH para estimar la capacidad antioxidante de plantas y compuestos naturales, utilizando diversos solventes prediluyentes y distintos tiempos de reacción⁷.

En la **gráfica 2**, se presenta la concentración de ABTS donde podemos observar que la media obtenida de los 16 germoplasmas estudiados fue de 934.86 µg de trolox/100g, las concentraciones más altas obtenidas fueron de los lotes L-13, A-2 y L-7, A-11 con valores de 947.54 y 946.60 µg de trolox/100g respectivamente; y la menor concentración correspondió al germoplasma L-5, A-4 con 877.20 µg de trolox/100g. En estos resultados se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($r^2=0.9966$ y $P<0.001$) entre los 16 germoplasmas analizados.



Gráfica 2. Comparación del análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de ABTS de 16 germoplasmas.

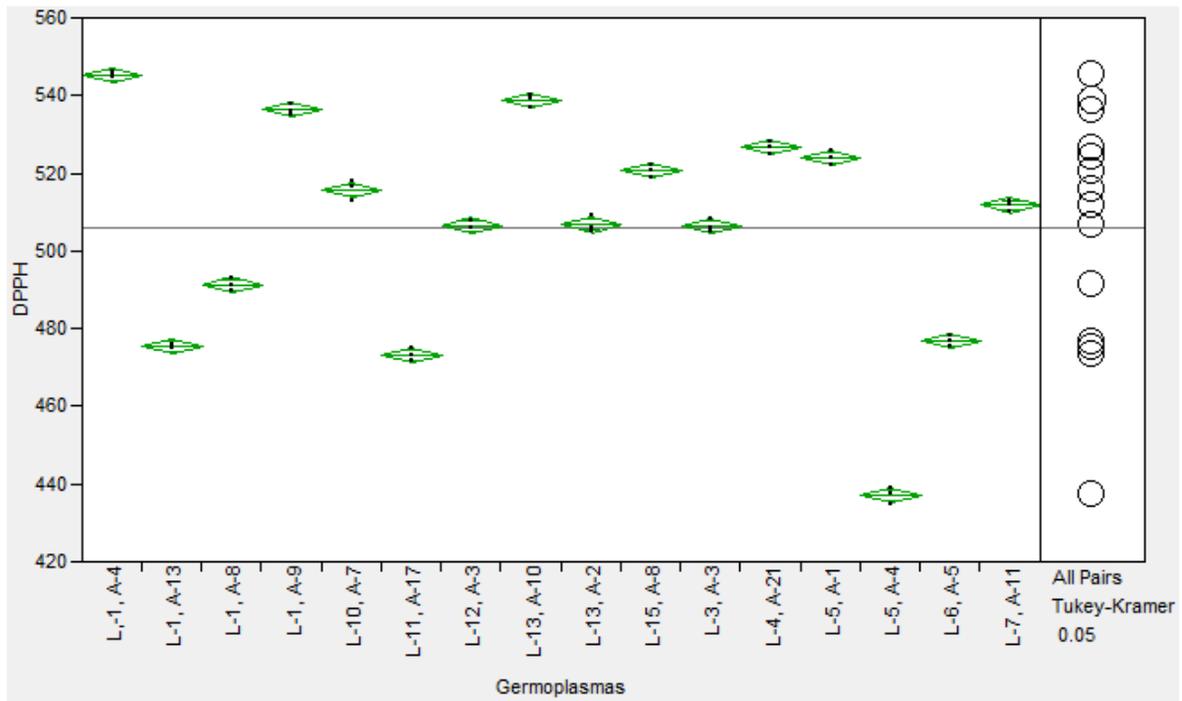
Los resultados obtenidos indican una importante capacidad antioxidante de los germoplasmas analizados, donde al igual que otros estudios similares como los presentados por Fu⁵, la guayaba es considerada como una de las frutas con mayor actividad de antioxidantes, junto con los dátiles chinos, las granadas, el caqui, la ciruela, el wampee chino y la cereza.

Actividad antioxidante de guayaba por DPPH

Los radicales libres como el 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH), son moléculas cuya característica principal es tener uno o más electrones en su orbital más externo, lo cual genera que sean muy reactivos al medio en el que se encuentran. Los seres humanos generamos radicales libres en la

cadena respiratoria mitocondrial y a su vez contamos con mecanismos contra la presencia dañina de radicales libres, en su mayoría por acción enzimática. El DPPH es un radical libre utilizado principalmente en la evaluación de la capacidad antioxidante ya que tiene la capacidad de reaccionar con compuestos antioxidantes que se caracteriza por la cesión de un átomo de hidrogeno proporcionado por el antioxidante⁶.

En la **gráfica 3**, se presenta la concentración de DPPH, podemos observar que la media obtenida de los 16 germoplasmas estudiados fue de 505.79 μg de trolox/100g, las concentraciones más altas obtenidas fueron de los lotes L-1, A-4 y L-13, A-10 con valores de 544.79 y 539.21 μg de trolox/100g respectivamente; y la menor concentración correspondió al germoplasma L-5, A-4 con 437.70 μg de trolox/100g. En estos resultados se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($r^2=0.9977$ y $P<0.001$) entre los 16 germoplasmas analizados.



Gráfica 3. Comparación del análisis de varianza (ANOVA) de la concentración de DPPH de 16 germoplasmas.

En la **tabla 1**, se presentan los parámetros con actividad antioxidante evaluados en *Psidium guajava* L. y una determinación de la concentración expresada en Trolox de la actividad antioxidante utilizando los radicales ABTS y DPPH.

Tabla 1. Contenido de compuestos con Actividad Antioxidante de 16 germoplasmas de (*Psidium guajava* L).

Germoplasma	Vitamina C	Polifenoles	ABTS	DPPH
Lote	mg/ 100g	mg de ácido gálico/100g	μg de trolox/100g	μg de trolox/100g

L-1, A-4	223.11 ±2.53 ^E	76.09 ±3.12 ^{BC}	946.13 ±1.64 ^A	544.79 ±1.48 ^A
L-1, A-8	250.41 ±2.67 ^D	80.73 ±1.94 ^B	934.32 ±9.22 ^{AB}	491.06 ±0.64 ^I
L-1, A-9	199.42 ±3.57 ^F	81.50 ±3.65 ^B	943.77 ±1.42 ^A	535.12 ±0.32 ^C
L-1, A-13	13.57 ±1.46 ^N	49.30 ±3.09 ^F	895.61 ±3.75 ^C	474.88 ±1.40 ^{JK}
L-3, A-3	422.61 ±1.58 ^A	68.62 ±3.54 ^{CD}	937.63±1.64 ^A	508.35 ±0.85 ^{GH}
L-4, A-21	192.11±3.17 ^F	77.38 ±1.61 ^B	943.77 ±5.11 ^A	526.94 ±1.67 ^D
L-5, A-1	118.59 ±0.55 ^J	64.76 ±2.04 ^D	942.82 ±4.97 ^A	522.10 ±1.96 ^E
L-5, A-4	165.28 ±2.34 ^G	48.02 ±1.94 ^F	877.20 ±7.50 ^D	437.70 ±0.56 ^L
L-6, A-5	94.97 ±4.51 ^K	60.90 ±2.04 ^{DE}	922.05 ±6.69 ^B	475.26 ±1.16 ^J
L-7, A-11	25.03 ±1.45 ^M	68.37 ±2.71 ^{CD}	946.60 ±1.42 ^A	510.21 ±0.97 ^G
L-10, A-7	149.80 ±8.95 ^H	92.58 ±3.54 ^A	943.30 ±7.27 ^A	516.34 ±0.97 ^F
L-11, A-17	409.22 ±4.74 ^B	68.37 ±3.12 ^{CD}	940.93 ±5.11 ^A	471.54 ±1.61 ^K
L-12, A-3	132.52 ±1.91 ^I	54.71 ±3.54 ^{EF}	940.46 ±2.95 ^A	505.74 ±1.12 ^H
L-13, A-2	78.01 ±4.92 ^L	64.50 ±1.18 ^D	947.54 ±0.82 ^A	505.00 ±0.32 ^H
L-13, A-10	137.79 ±1.47 ^I	77.64 ±1.94 ^B	944.71 ±0.82 ^A	539.21 ±2.01 ^B
L-15, A-8	311.45 ±1.93 ^C	81.50 ±1.61 ^B	940.46 ±8.30 ^A	520.80 ±0.56 ^E

Nota: Compuestos Antioxidantes y Actividad Antioxidante ± Desviación Estándar. Literales Iguales en las Columnas Indican que no hay Diferencia Estadística (P<0.05).

El consumo continuo de alimentos con una actividad antioxidante importante ayuda a prevenir diferentes enfermedades causadas por la acción de radicales libres mejorando así la salud de la población en general debido a su capacidad de neutralizar los efectos negativos de los radicales libres a los que se encuentra expuesto continuamente el cuerpo humano¹², es por eso que con base a los resultados obtenidos en los frutos evaluados se considera que su consumo en un régimen alimentario diario puede ayudar a mejorar la salud de las personas.

En la **tabla 2**, se muestran los porcentajes inhibición de los radicales libres sintéticos de referencia (ABTS y DPPH) inducidos por los extractos de los frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) donde podemos observar que el ABTS tiene más de un 10% de inhibición con respecto a DPPH derivado de la actividad antioxidante de los germoplasmas analizados.

Tabla 2. *Porcentaje de inhibición de 16 germoplasmas en Psidium guajava L. respecto a los radicales ABTS Y DPPH.*

Germoplasma	ABTS	DPPH
Lote	% Inhibición	% Inhibición
L-1, A-4	98.81	88.22
L-1, A-8	97.62	77.52
L-1, A-9	98.57	86.30
L-1, A-13	93.71	74.30
L-3, A-3	97.95	80.96
L-4, A-21	98.57	84.67
L-5, A-1	98.48	83.70
L-5, A-4	91.86	66.89
L-6, A-5	96.38	74.37
L-7, A-11	98.86	81.33
L-10, A-7	98.52	82.56
L-11, A-17	98.29	73.63
L-12, A-3	98.24	80.44
L-13, A-2	98.95	80.30
L-13, A-10	98.67	87.11
L-15, A-8	98.24	83.44

Nota: Porcentaje de inhibición. Literales Iguales en las Columnas Indican que no hay Diferencia Estadística ($P < 0.05$).

Se realizó un análisis comparativo utilizando todos los parámetros obtenidos de los 16 germoplasmas para identificar grupos de similitud, de acuerdo con sus características de capacidad antioxidante y % de inhibición, utilizando para ello un dendrograma tipo clúster donde obtuvimos los resultados observados en la figura 17.

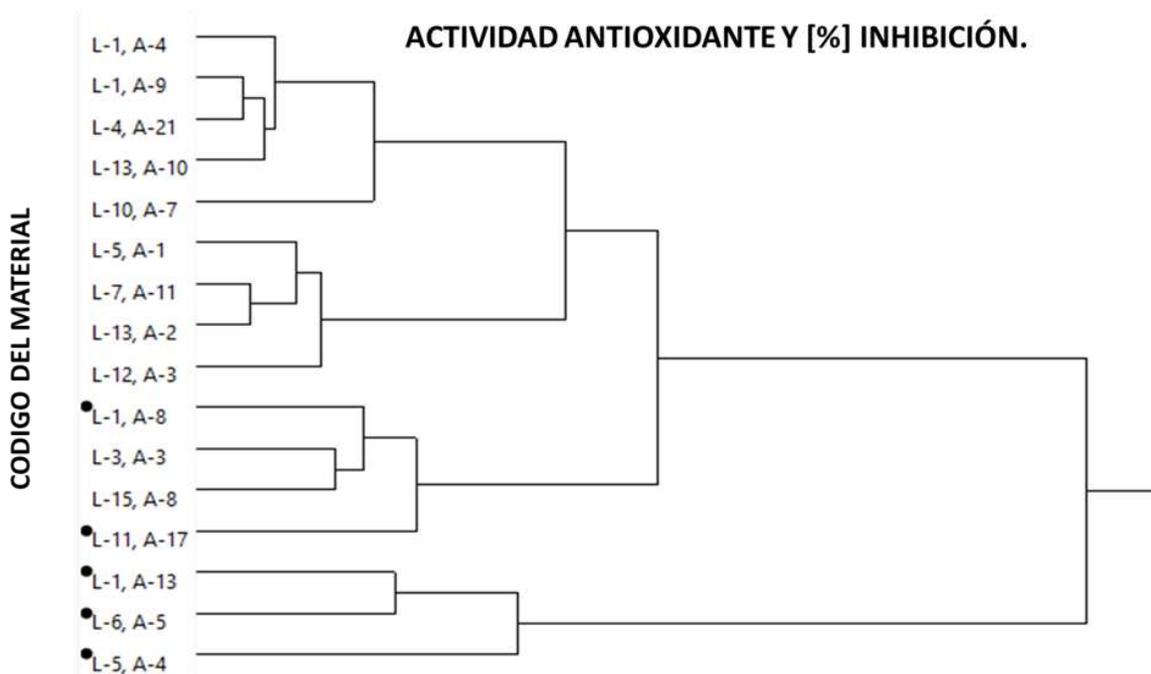


Figura 17. Dendrograma tipo clúster de los 16 germoplasma de guayaba evaluados

CONCLUSIONES

Existen diferencias significativas entre las características de los 16 germoplasmas analizados, demostrando así la amplia variabilidad que presenta *Psidium guajava* L. De acuerdo con los resultados obtenidos en los germoplasmas, se puede concluir que es un alimento con altos valores de vitamina C, polifenoles, una fuente importante de antioxidantes capacidad antioxidante, gracias a esto, es un excelente alimento altamente recomendable como parte de una dieta balanceada, que apoya en la prevención de enfermedades causadas por estrés oxidativo. En un 70% los germoplasmas analizados cuentan con excelentes cualidades para formar parte de una dieta balanceada, que beneficie al consumidor para disminuir enfermedades crónico-degenerativas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Araya, L. H., Clavijo, R. C., & Herrera, C. (2006). Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivadas en Chile. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 361-365.
2. Barberán, T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. ALIMENTACION, NUTRICION Y SALUD, 41-53
3. Córdova, T. L., López, P. A., Reyes, S. P., Villegas, M. A., Cadena, I. J., Mera, O. L., Gámez, M. O. (2015). Resultados en conservación, uso y aprovechamiento sustentable de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. Asociación Nacional para la Innovación y Desarrollo Tecnológico Agrícola, A. C., 13-325
4. Costa Nobre, D. A., Rodrigues Macedo, W., Silva, G. H., Santos Lopes, L., & Lizarazo Jaimes, E. H. (2019). Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálico sobre la calidad de semillas de trigo. Revista de Ciencias Agrarias, 22-29

5. Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., & Li, H.-B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 345-350
6. Guija Poma, E. A., M., I. C., Ponce Pardo, J., & E., Z. N. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz Med*, 57-60.
7. Jian-Wei Dong, L. C., & Yun Xing, J. Y.-T. (2015). Re-evaluation of ABTS⁺ Assay for Total Antioxidant Capacity of Natural Products. *Natural Product Communications*, 2169 – 2172
8. Medina, B. M., & Pagano, G. F. (2003). Caracterización de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) tipo "Criolla Roja". *Revista de la Facultad de Agronomía*.
9. Naksuriya, O., & Okonogi, S. (2015). Comparison and combination effects on antioxidant power of curcumin with gallic acid, ascorbic acid, and xanthone. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 136-141
10. Palomino, P. M., Guija, P. E., & Lozano, R. N. (2009). Propiedades antioxidantes de la guayaba (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*
11. Quirós Saucedo, Ana Elena, Palafox, Hugo, Robles Sánchez, Rosario Maribel, González Aguilar Gustavo A. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: Capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Biotecnia* [en línea]. 2011, 13(3), 3-11 [fecha de Consulta 2 de Mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971156001>
12. Zapata, K., Cortes, F., & Rojano, B. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidium araca*). *Scielo*, 130-112.

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EN EMBRIONES DE HÁMSTER EN ESTADOS INICIALES DE LA SEGMENTACIÓN

Aleksandra Monserrat Alarcón Evtoukh¹, Ena Monserrat Boone Tapia¹,
María del Carmen Navarro Maldonado², Demetrio Alonso Ambríz García².

¹Licenciatura en Biología Experimental²Departamento de Biología de la Reproducción. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Ciudad de México.

deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

El ovocito del hámster sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) tiene unas 100,000 mitocondrias generadoras de gran cantidad de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) a través de la fosforilación oxidativa principalmente. La gestación, en esta especie, dura 16 días, en los cuatro primeros, el embrión transita libremente el lumen oviductal segmentándose, lo cual implica un aumento de la actividad metabólica por la división celular y los procesos de diferenciación. Las ERO se producen de forma natural en los embriones como subproductos de la generación de ATP y se neutralizan a través de mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, que determinan el progreso del desarrollo. La cuantificación de ERO en embriones en segmentación en otros modelos animales, se ha realizado en ensayos de fertilización *in vitro* (FIV) y de transferencia nuclear de células somáticas (TNCS), sin embargo, poco se ha abordado en la segmentación *in vivo*. En el presente trabajo se cuantificaron las ERO en embriones *in vivo* de hámster, desde la etapa de cigoto hasta la de 8 células. Se observó que, conforme avanzó la segmentación, aumentó la producción de ERO, desde 21.6 unidades de fluorescencia en cigoto, hasta alrededor de 44.5 en embrión de 8 células ($p=0.46$). En embriones obtenidos por FIV y TNCS de otras especies, como los ovinos, se ha observado que las ERO se reducen a partir de las etapas de 2 a 4 células y aumentan conforme alcanzan las etapas de mórula y blastocisto, lo que es diferente a los aquí reportado, en donde se observó un aumento constante de las ERO desde el inicio de la segmentación. Esto puede estar relacionado con las condiciones especie-específicas de la obtención de embriones producidos *in vivo*, así como los mecanismos de defensa antioxidante presentes en los fluidos foliculares y oviductales, lo cual debe considerarse para mejorar las técnicas de producción *in vitro* de embriones, como FIV y TNCS.

INTRODUCCIÓN

Los procesos de oxidación celular, así como los mecanismos enzimáticos y no enzimáticos presentes de manera fisiológica, determinan el equilibrio oxido-reductor (REDOX) y en consecuencia la continuidad o suspensión de procesos vitales. Es conocido que el organelo que produce más moléculas Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) es la mitocondria y que el ovocito, así como el embrión y sus correspondientes blastómeros, poseen un gran número de ellas. Aunado a que los procesos de división celular en el embrión son continuos y que conjunta además procesos de diferenciación celular, lo que hace que emita gran cantidad de ERO, pero también posee *in vivo*, los mecanismos de atenuación para evitar daño celular, sin embargo, cuando los procesos de segmentación y de diferenciación celular ocurren en sistemas *in vitro*, acarrear un balance inadecuado de REDOX por lo que se presentan daños celulares de consideración. Por lo que el estudio de estos mecanismos de producción de ERO *in vivo*, son importantes en distintas especies animales, para conocer los mecanismos fisiológicos de control y procurar establecerlos en los sistemas de producción de embriones, con fines experimentales o de producción *in vitro*.

TEORÍA

El hámster pertenece al orden de los roedores (familia *Cricetidae*), existen cinco especies originarias de Asia, específicamente de la región del Cáucaso, siendo el hámster dorado de Siria (*Mesocricetus auratus*) el más utilizado en experimentación, procedente de una camada capturada en Alepo (Siria). Se caracterizan físicamente por tener un cuerpo compacto y cola extremadamente corta, la zona de la cabeza es ancha con orejas cortas, redondeadas y fácilmente plegables, además de ojos flotantes, mientras en la zona bucal carece de caninos y premolares, y la presencia de abazones distintivos a la especie (Vargas *et al*, 2018; Benavides y Guénet, 2004); siendo el último de los roedores introducidos a los bioterios con un promedio de vida media de 2-2.5 años (Flores, 2016; Vargas *et al*, 2008). El hámster dorado posee 22 pares de cromosomas ($2n=44$), además de un dimorfismo sexual en el que la hembra adulta (hasta 150 gr.) es más grande que el macho (hasta 130 gr.) (Benavides y Guénet, 2004).

En hembras, la ovogénesis es el proceso mediante el cual las ovogonias se transforman en óvulos maduros capaces de ser fecundados, proceso que se inicia desde el periodo fetal donde las células germinales primordiales (CGP) sufren una serie de cambios hasta diferenciarse en ovogonias (Arteaga y García, 2017), las cuales posteriormente por medio de divisiones meióticas alcanzan la formación del ovocito primario, el cual permanece en estado quiescente hasta alcanzar la madurez sexual en diploteno (profase I) de la meiosis I (Ponce, 2015). En el hámster, la madurez sexual se alcanza hacia el día 35 de vida, cuando un número determinado de folículos reanudan periódicamente la división meiótica a partir de la influencia de hormonas como la foliculoestimulante (FSH), luteinizante (LH) y estrógeno (E_2) que inducen el crecimiento y maduración del ovocito (Arteaga y García, 2017) que llevan a la adquisición de la competencia del ovocito, específicamente en la fase de crecimiento, indicando un período de intensa actividad metabólica (Martín, 2010) a través de la organización citoplásmica en la que se reorganizan organelos como la mitocondria, las cuales son abundantes, de morfología ovalada o esférica, con matriz densa y pocas crestas en la membrana interna (Martín, 2010) y la maduración del núcleo, con el fin de preparar al ovocito para ser fecundado con éxito y mantener la primera fase de desarrollo embrionario; permitiendo la expulsión del primer cuerpo polar fuera del citoplasma y concluyendo con la primera división meiótica, contando con poco más de 100.000 mitocondrias en el ovocito (Ponce, 2015; Bradley y Swann, 2019). Tal y como ocurre en otros mamíferos; el ciclo estral del hámster comprende una duración de cuatro días durante todo el año, a través de un fotoperiodo de 14 h luz/10 h oscuridad, siendo en la tarde del tercer día del ciclo cuando la hembra es receptiva al macho, y en el cuarto día entre la medianoche y la 1 am, es cuando ocurre la ovulación, la cual es fácilmente identificada al observar una secreción vaginal abundante, blanquecina brillante, aromática y adherente; dando en promedio 10 ovocitos ovulados de aproximadamente 70 μm de diámetro (Vargas *et al*, 2018; Flores, 2016).

En mamíferos los oviductos son órganos del tracto reproductor femenino en los que se llevan a cabo: el transporte de los gametos, la capacitación espermática, la segmentación embrionaria y el transporte del embrión hacia el útero para su posterior implantación, eventos posibles debido a que el oviducto posee 4 regiones (fimbria, infundíbulo, ampulla e istmo) histológicamente diferentes y un microambiente de características favorables. En el caso del hámster, el ovocito posee una vida fértil máxima de 13 horas dentro del oviducto, a la espera de ser fecundado (Arteaga y García, 2017); siendo en el ampulla, la porción media del oviducto, específicamente en la unión istmo-ampular donde ocurre la fecundación que lleva al ovocito al término de la meiosis II, dando lugar a la formación del cigoto que a través de un proceso denominado segmentación, da una serie de divisiones mitóticas aumentando el número de células (blastómeros) hasta desarrollarse en un embrión de 8 blastómeros, proceso que se efectúa durante el transporte del óvulo hacia el útero. Además de la maduración de las mitocondrias que forman nuevas crestas, la cual es considerada la mayor

productora de EROs debido a la producción de energía química (Macedo, 2012), las especies reactivas de oxígeno (EROs) son moléculas reactivas como el radical hidroxilo (OH), el radical superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), cuya reactividad está dada al poseer un electrón desapareado que interacciona con otra molécula próxima y disponible con el fin de completar el electrón faltante, provocando una reacción en cascada que conduce a la disfunción o al mal funcionamiento de la molécula reaccionada (Flores, 2016). A pesar de que las EROs regulan varios procesos celulares, también resultan nocivas para los organismos cuando se producen en grandes cantidades (“estrés oxidativo”), el cual se ha vinculado al envejecimiento y al desarrollo de afecciones (Macedo, 2012).

En la mitocondria, la primera ERO producida es el O_2^- (radical superóxido) por medio de la reducción del O_2 por la adición de un electrón (Flores, 2016), posteriormente debido a un complejo sistema de metabolitos antioxidantes y enzimas cuya función radica en proteger los componentes celulares como el ADN, proteínas y lípidos del daño oxidativo (Hosseini *et al*, 2011); se adiciona un electrón más por efecto de la enzima superóxido dismutasa (SOD) dando como resultado el ion peróxido el cual se protona rápidamente para producir el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que también puede ser formado mediante la acción de la monoamina oxidasa (MAO) en la membrana mitocondrial externa (MME) (Delgado *et al*, 2010). El H_2O_2 , es una ERO mucho más estable, por lo que le confiere la capacidad de atravesar fácilmente las membranas biológicas o de ser transportado por acuaporinas para su eliminación por medio de enzimas antioxidantes (catalasas, peroxidases y tioredoxinas) en el citosol (Hosseini *et al*, 2011) o en el caso de que exista la presencia de metales (Flores, 2016), da por resultado la generación del radical hidroxilo (OH) a través de la reacción de Fenton (o Haber-Weiss) catalizada por Fe^{2+} en presencia de O_2^- y H_2O_2 , generando más radicales OH (Nasr-Esfahani y Johnson, 1991; Delgado *et al*, 2010); el cual se produce continuamente en las mitocondrias debido a la "fuga" de electrones de alta energía a lo largo de la cadena de transporte de electrones (Macedo, 2012). A medida que se continúa dividiendo se alcanza la etapa de mórula (de 16 a 32 blastómeros), originando una estructura altamente compactada donde aumenta la producción de ERO debido a la alta demanda energética de la ATPasa Na^+/K^+ para la formación de la cavidad del blastocele (Camargo *et al*, 1999), necesaria para que se lleve a cabo la primera diferenciación en el desarrollo de embriones de mamíferos. En hámster, la gestación se da en un periodo de 16-17 días, (Arteaga y García, 2017) el cual puede ser diagnosticado a partir del día 7 de ocurrido el apareamiento al palpar el abdomen y localizar en ambos lados de la línea media, los úteros con los embriones o fetos en crecimiento (Vargas *et al*, 2008; Benavides y Guénet, 2004).

Este trabajo se llevó a cabo por microscopia de fluorescencia, una técnica que, con el uso de un marcador fluorescente (fluorocromo) se excita para crear contraste en zonas determinadas de elementos de interés. El fluorocromo usado fue el diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (H_2DCFDA) a una λ_{exc} 502 nm, λ_{em} 523 nm. En su forma no ionizada penetra en la célula donde los grupos de acetato son hidrolizados por la actividad de la esterasa intracelular formando 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCHF), quedando atrapada dentro de la célula. La fluorescencia se produce cuando es oxidado por el H_2O_2 o los peróxidos lipídicos para producir 2',7'-diclorofluoresceína (DCF); proporcionando una medida de los niveles de peróxido (Nasr-Esfahani y Johnson, 1991).

PARTE EXPERIMENTAL

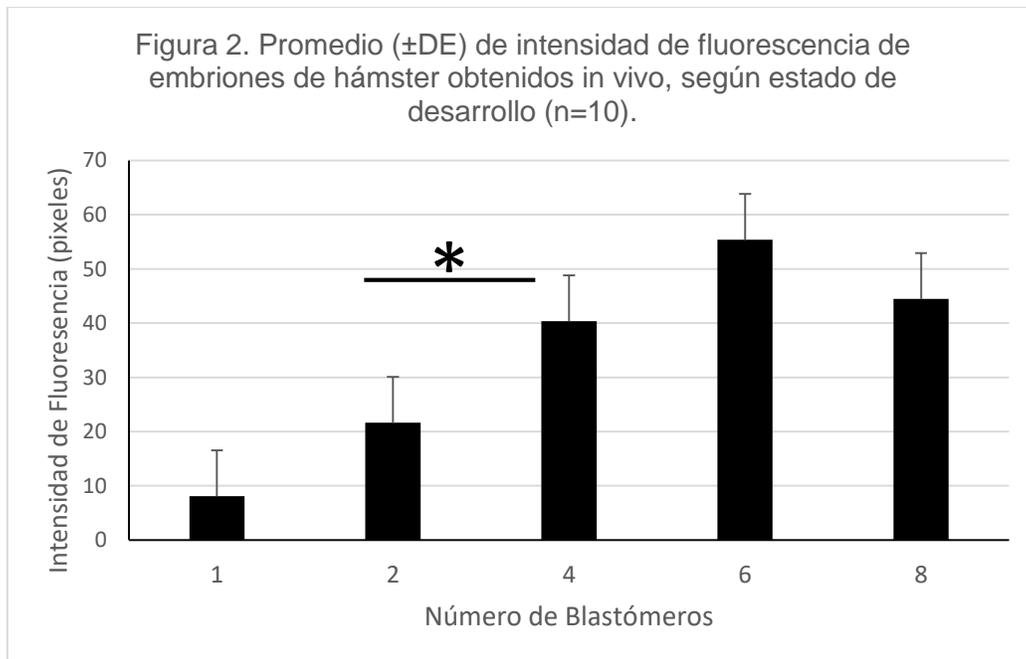
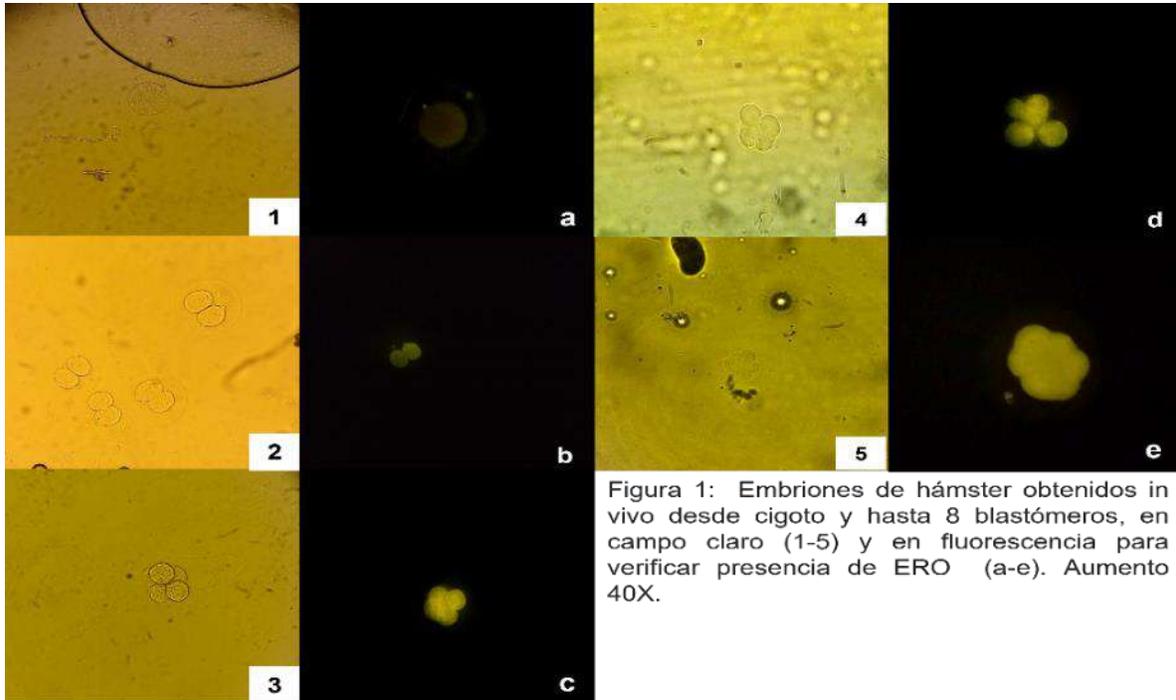
Se utilizaron seis hembras hámster de la especie *Mesocricetus auratus* con ciclos estrales regulares (4 días), procediendo al apareamiento de los hámsteres seleccionados que se encontraban en el día 3 de su ciclo estral (proestro) (Vargas *et al*, 2018). Las hembras fueron colocadas en grupo de machos durante toda la noche; a la mañana siguiente, se corroboró la presencia de espermatozoides a través de un frotis vaginal (4 día, metaestro) de la secreción vaginal postovulatoria, cuya apariencia es abundante de color blanquecino, brillante, aromático y adherente indicativo de la ovulación, o en

el tapón seminal cuya textura es más dura (Vargas *et al*, 2018), donde la presencia de al menos un espermatozoide indicaría que el apareamiento se llevó adecuadamente.

La obtención de los embriones se realizó de acuerdo con lo descrito por Navarro *et al* (2000): las hembras fueron sacrificadas por medio de dislocación cervical, y posteriormente colocadas en una plancha de disección en decúbito dorsal realizando una incisión por la línea media ventral, abarcando piel, músculo y peritoneo; se disecó el aparato reproductor y se colocó en una caja de cultivo de 4 pozos donde se lavó con solución de PBS a temperatura ambiente y se limpió de grasa, vasos y detritos. A continuación, se disecaron ovarios y oviductos, colocándolos por separado en cajas de cultivo de 4 pozos preparadas con PBS, donde posteriormente bajo un microscopio estereoscópico, fueron perfundidos con 1 mL de PBS. Una vez obtenidos los embriones, se observaron las placas de cultivo en un microscopio invertido a 40x para localizar los embriones segmentados o cigotos. Con ayuda de una pipeta Pasteur de punta alargada unida a una manguera y boquilla, se recolectaron los embriones y se depositaron en los pozos de la caja de cultivo con 200µl de solución Hartmann. A continuación, se añadieron 8µl de H₂DCFDA (diacetato 2',7'-diclorodihidrofluoresceína) y dejó incubar en oscuridad a 37°C por 30 minutos (Martínez, 2016). Transcurrido este tiempo, se procedió a la fijación en un portaobjetos. Ahí se retiró el excedente de solución Hartmann con DCF y se colocó una gota de paraformaldehído, posteriormente se retiró éste y se colocó una gota de solución de montaje; el cubreobjetos se colocó sobre los embriones cuidadosamente. Finalmente se sellaron las orillas con barniz de uñas transparente y dejó secar para la posterior observación y fotografiado de las muestras en un microscopio de epifluorescencia equipado con un filtro UV de 460 nm (Martínez, 2016). Las fotografías se guardaron en el formato digital JPG, a partir de las cuales se determinó la intensidad de fluorescencia con el software Image J (Martínez, 2016).

RESULTADOS

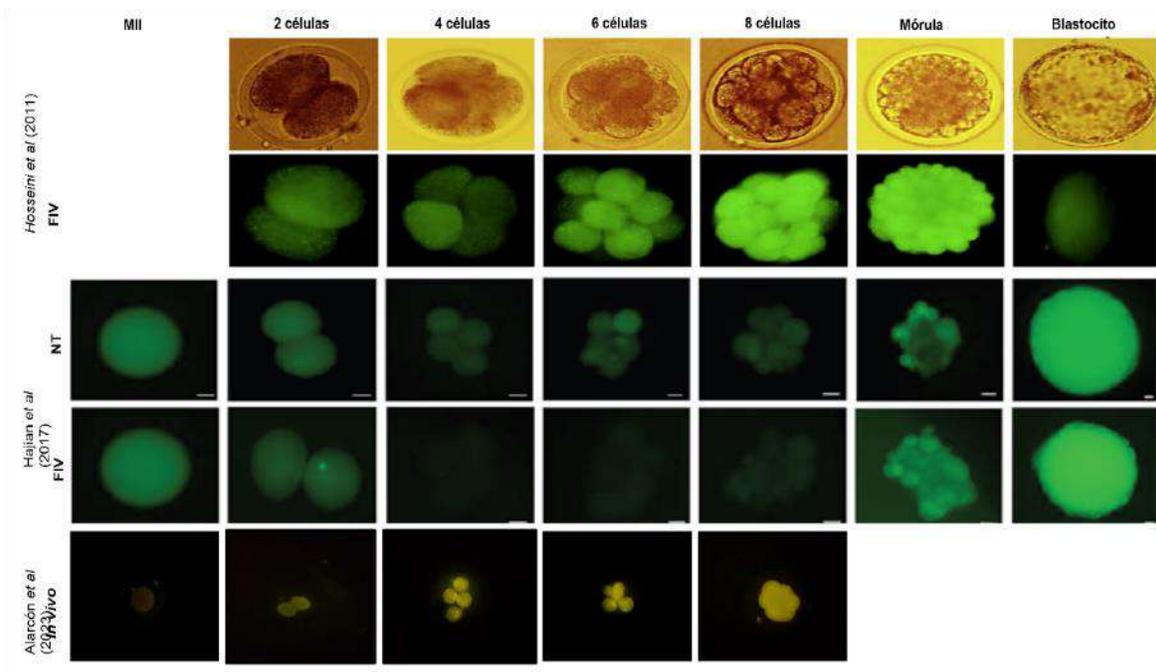
En el desarrollo embrionario o segmentación, las especies reactivas del oxígeno (EROs) juegan un papel importante tanto *in vivo* como *in vitro*, teniendo un efecto variable en base a las necesidades del embrión en cada fase del desarrollo, así como de su entorno (Jamil *et al*, 2020). En este estudio los embriones obtenidos *in vivo* se visualizaron en campo claro y por fluorescencia a través de un microscopio de epifluorescencia (Figura 1), denotando que la técnica con el fluorocromo DCF es adecuada para evidenciar los ERO, principalmente H₂O₂. En dichas fotos es difícil comparar la intensidad de fluorescencia y por ello la evidencia cuantitativa de la concentración de ERO en cada etapa embrionaria, debido a dificultades técnicas de fijación, montaje y toma de fotografía digital. Es por ello por lo que se hace el análisis de las imágenes con un programa específico (Image-J).



Con respecto a la evaluación cuantitativa se obtuvo que desde 1 blastómero y hasta 6 blastómeros hay un aumento constante de ERO, lo cual es coincidente con la actividad del genoma materno, donde el embrión solo utiliza los transcritos formados por el ovocito de origen, razón por la cual se denominan materno y con la mayor actividad metabólica para la división celular. A partir del embrión de 8 blastómeros, cuando ocurre la activación del genoma embrionario y por consecuencia la síntesis activa de moléculas, es posible que se sinteticen más moléculas enzimática o no enzimáticas relacionadas con la protección a la oxidación y por ello se obtuvo una intensidad de fluorescencia menor en relación a la etapa embrionaria previa de 6 blastómeros, sin embargo no debe dejarse de considerar que en la etapa de 8 blastómeros habrá una gran actividad metabólica relacionada con el proceso de compactación, diferenciación, construcción de blastocele y posteriormente del blastocisto.

En la Figura 3 podemos observar que la intensidad de fluorescencia de los embriones *in vivo* aumenta desde el estado de 1 y hasta el de 6 blastómeros a pesar de que *in vivo* los embriones están protegidos del estrés oxidativo por antioxidantes (vitamina A, C y E, piruvato, taurina, GSH y cisteamina), procedentes de los fluidos foliculares y oviductales (Deluao *et al*, 2022). Estadísticamente, se observó significancia en la intensidad de fluorescencia en la transición de 2 a 4 blastómeros ($p=0.03$). Por otro lado, el ovocito cuenta con poco más de 100.000 mitocondrias (Ponce, 2015; Bradley y Swann, 2019) donde las concentraciones biológicas de EROs en el embrión aumentan desde la activación del ovocito por el espermatozoide hasta la segmentación embrionaria, así como la regulación de los factores de transcripción y la eclosión del blastocisto (Deluao *et al*, 2022), lo que permite el aumento en la actividad metabólica al inicio de la segmentación. El aumento de intensidad de fluorescencia no fue significativo en embriones de 4 a 6 blastómeros y de 6 a 8 blastómeros ($p=0.15$ y $p=0.46$, respectivamente), debido posiblemente a que en las primeras fases de segmentación, los cambios metabólicos ocurrientes en el embrión aumentan la absorción de piruvato y la producción de lactato, a la vez que el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono disminuyen, por lo que el embrión previo a la compactación es relativamente relajado metabólicamente hablando. Estos resultados, aquí obtenidos, son semejantes a los de embriones ovinos obtenidos por FIV y en de embriones caprinos obtenidos por transferencia nuclear (NT) de Hosseini *et al* (2011) y Hajian *et al* (2017), sin embargo, al comparar la fluorescencia de ERO en modelos *in vitro*, en la Figura 3, se observa que en embriones caprinos obtenidos por FIV existe mayor disminución con respecto a los embriones ovinos y también se observa una diferencia en contraste con los embriones obtenidos por NT, a partir de embriones de 4 blastómeros. Estas diferencias existen porque las condiciones de cultivo *in vitro*, influyen en la producción de EROs a pesar de que los medios de cultivo están compuestos por una solución salina equilibrada, un sistema tampón de bicarbonato sódico, albúmina sérica, aminoácidos y vitaminas, los cuales no garantizan el balance REDOX y el que algunos de estos medios sean más eficaces que otros (Morbeck *et al*, 2014; Shih *et al*, 2014). Es importante considerar que los embriones dependen de sus propios mecanismos de defensa antioxidantes para protegerse contra el daño oxidativo (Deluao *et al*, 2022), lo que podría influir en la disminución de la producción de ERO en los distintos ensayos. Además, podemos observar en la Figura 3 que la expresión de ERO (fluorescencia) fue mayor a partir del estado de mórula, ocurriendo también *in vivo* (de 8 blastómeros en proceso de compactación), esto es debido a que durante estas etapas, aumenta la absorción de glucosa, producción de lactato y el consumo de oxígeno y la fosforilación oxidativa (Houghton *et al*, 1996, Gardner *et al*, 2000, Trimarchi *et al*, 2000; Deluao *et al*, 2022) debido a la alta demanda energética de la ATPasa Na^+/K^+ para la formación de la cavidad del blastocele, lo que indica que requieren un estado más oxidado favoreciendo la adaptación al medio uterino, el cual es más hipóxico que el oviductal (Camargo *et al*, 1999; Harvey 2002; Tarazona *et al*, 2010).

Figura 3: Presencia de fluorescencia para ERO en embriones, según origen y especie. Comparación entre imágenes de fluorescencia en embriones de ovinos por FIV (Hosseini et al, 2011), embriones caprinos por FIV y derivados de SCNT (Hajian et al, 2017) y embriones de hámster *in vivo* (Alarcón et al, 2023) en diferentes etapas del desarrollo de embriones.



CONCLUSIONES

Las condiciones especie-específicas de obtención de los embriones ya sea *in vivo*, por fertilización *in vitro* (FIV) o por clonación (NT), influyen en la cantidad de especies reactivas de oxígeno (EROs) producidas (Intensidad de fluorescencia), así como los mecanismos antioxidantes presentes naturalmente en el organismo con respecto a los empleados en los medios de cultivo, influyendo en éstos la tensión de oxígeno, la luz, el pH, la temperatura y el contenido del medio celular, provocando variabilidad en la producción de EROs. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo pueden llevar a un mejor entendimiento de la producción de EROs durante las etapas iniciales de segmentación *in vivo*, con el fin de mejorar las condiciones de cultivo y optimizar el desarrollo embrionario.

BIBLIOGRAFÍA

1. S. M. Arteaga, M. I. García, “Capítulo 1. Introducción y conceptos básicos. Etapas de desarrollo” en *Embriología Humana y Biología del Desarrollo* (Editorial Médica Panamericana, Ciudad de México, México, 2017) **Capítulo 1.**
2. F. J. Benavides, J-L Guénet, “Sistemática del hámster” en *Manual de genética de roedores de laboratorio*, (Laboratory Animals Limited whit Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL), Barcelona, España, 2004), Capítulo 3.3, pp. 97-99.
3. J. Bradley, K. Swann “Mitochondria and lipid metabolism in mammalian oocytes and early embryos”, *Int. J. Dev. Biol.*, Vol. 63, 2019, pp.93-103.
4. O. Camargo, J. L. Ramírez, M. Olivera, “Radicales libres y el desarrollo embrionario”, *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, Vol. 12, 2, 1999, pp. 108-118.
5. L. Delgado, G. Betanzos- Cabrera, Ma. T. Sumaya, “Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo”, *Investigación y Ciencia*, Vol. 50, pp. 10-15.

6. J. C. Deluao, Y. Winstanley, L. Rebecca, "OXIDATIVE STRESS AND REPRODUCTIVE FUNCTION: Reactive oxygen species in the mammalian pre-implantation embryo", *Society for Reproduction and Fertility*, Vol. 164, 6, 2022, pp. F95-F108.
7. N. Flores, "Posible participación de los ovocitos degenerados con los ovocitos viables en hembras hámster adultas" en *Tesis Universidad Autónoma Metropolitana* (Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México, 2016).
8. D. K. Gardner, T. B. Pool, M. Lane, "Embryo nutrition and energy metabolism and its relationship to embryo growth, differentiation, and viability", *Semin Reprod Med*, Vol. 18, 2, 2000, pp. 205–218.
9. M. Hajian, S. M. Hosseini, S. Ostadhosseini, M. H. Nasr-Esfahani, "Comparative Stepwise Pattern of Reactive Oxygen Species Production during In Vitro Development of Fertilized and Nuclear Transferred Goat Embryos", *Int J Fertil Steril*, Vol. 11, 2, 2017, pp. 93-98.
10. M. B. Harvey, M. Y. Arcellana-Panlilio, X. Zhang, G. A. Schultz, A. J. Watson." Expression of genes encoding antioxidants enzymes in preimplantation mouse and cow embryos and primary bovine oviduct cultures employed for embryo coculture", *Biol. Reprod.*, Vol. 53, 3, 1995, pp. 532-540.
11. S. O. Hosseini, F. Aghaee, S. M. Hosseini, M. Hajiana, M. Forouzanfar, M. Noorbakhshnia, H. Gourabi, A. H. Shahverdi, A. Vosough A , M. H. Nasr-Esfahani M. "Effect of culture condition and cell-permeable superoxide dismutase on levels of reactive oxygen species (ROS) production in "in vitro" produced sheep embryos", *Small Ruminant Research*, Vol. 97, 2011, pp. 88–93.
12. F. D. Houghton, J. G. Thompson, C. J. Kennedy, H. J. Leese, "Oxygen consumption and energy metabolism of the early mouse embryo", *Mol. Reprod. Dev.*, Vol. 44, 4, 1996, pp. 476–485.
13. M. Jamil, H. Debbarh, S. Aboulmaouahib, O. Aniq Filali, K. Mounaji, M. Zarqaoui, B. Saadani, N. Louanjli, R. Cadi R, "Reactive oxygen species in reproduction: harmful, ¿essential or both?", *Cambridge University Press*, Vol. 28, 4, 2020, pp. 255-269.
14. A. Macedo, "La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*", *TIP Rev. Esp. Cienc. Quim. Biol.*, Vol. 15, 2, 2012, pp. 97-103.
15. G. Martín G, "Estudio del perfil metabólico de los complejos ovocito-cumulus porcinos en la maduración in vitro" en *Tesis Universidad de Buenos Aires* (Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina, 2010).
16. J. Martínez J, "Obtención de embriones de ovino por transferencia nuclear a partir de fibroblastos de piel y ovocitos madurados in vitro con resveratrol" en *Tesis Universidad Autónoma Metropolitana*, (Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México, 2016).
17. D. E. Morbeck, R. L. Krisher, J. R. Herrick, N. A. Baumann, D. Matern, T. Moyer T, "Composition of commercial media used for human embryo culture", *Fertil. Steril.*, Vol. 102, 3, 2014, pp. 759. e9–766.e9.
18. M. M. Nasr-Esfahani, M. H. Johnson, "The origin of reactive oxygen species in mouse embryos cultured in vitro", *Development*, Vol. 113, 2, 1991, pp. 551-560.
19. Ma. del C. Navarro, D. Ambriz, E. Mundo, A. Trejo, O. Hernández, A. Rosado A, "Desarrollo embrionario temprano en el hámster Sirio Dorado, *Mesocricetus auratus* (*Mammalia: Rodentia*)", *Acta Zool. Mex.*, Vol. 81, 2000, pp. 105-115.
20. Sta. Ponce, "Capítulo 6. Biología del Desarrollo Humano" en *Histología Básica: Fundamentos de biología celular y del desarrollo humano* (Editorial Médica Panamericana, Ciudad de México, México, 2015), Capítulo 6.
21. Y. F. Shih, T. H. Lee, C. H. Liu C, H. M. Tsao, C. C. Huang C, M. S. Lee, " Effects of reactive oxygen species levels in prepared culture media on embryo development: a comparison of two media", *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.*, Vol. 53, 4, 2014, pp. 504–508.
22. A. M. Tarazona, M. Olivera M, Y. Y. Lenis, "Rol de la mitocondria y el estrés oxidativo en el bloqueo del desarrollo de embriones bovinos producidos in vitro", *Archivos de Medicina Veterinaria*, Vol. 42, 3, 2010, pp. 125-133.

23. J. R. Trimarchi, L. Liu, D. M. Porterfield, P. J. S. Smith, D. L. Keefe, "Oxidative phosphorylation-dependent and -independent oxygen consumption by individual preimplantation mouse embryos", *Biology of Reproduction*, Vol. 62, 6, 2000, pp. 1866–1874.
24. B. Vargas, D. Ambriz, Ma. del C. Navarro, A. Trejo, G. Rodríguez, Ma. Del R. González, "Hámster cepa Sirio Dorado (*Mesocricetus auratus*)" en *Manejo de animales del Bioterio de la UAM-I* (Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México, 2018), Capítulo 3.3, pp. 47- 55.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN EXÓGENA DE ALFA-TOCOFEROL EN PLANTAS DE FRIJOL

Adrián A. Senda-Núñez, Gustavo J. Acevedo-Hernández, Osvaldo A. Castellanos-Hernández, Rayn C. Aarland, Araceli Rodríguez-Sahagún.

Laboratorio de Biología Molecular Vegetal, Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara. Avenida Universidad, No.1115, Col. Lindavista, CP. 47810, Ocotlán, Jalisco. México.
adrian.senda@alumnos.udg.mx

RESUMEN

El α -tocoferol, la forma más conocida de la vitamina E, es un antioxidante importante en las plantas que protege contra el estrés oxidativo generado por la radiación solar y otras tensiones ambientales, la fotosíntesis está fuertemente influenciada por la radiación solar y es indispensable para la vida de las plantas, estas pueden generar especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), que pueden dañar la membrana celular, las proteínas y el ADN de las células vegetales. El α -tocoferol es capaz de eliminar y/o reducir las ROS y con ello reducir el daño causado por el estrés oxidativo¹. En plantas puede regular la expresión génica y la actividad de las enzimas, lo que puede mejorar el crecimiento y la resistencia de estas a diferentes factores ambientales², se ha demostrado que juega un papel esencial para la germinación de las semillas y el desarrollo de las raíces³. Concentraciones de 0, 50, 75 y 100 mM de α -tocoferol proveniente de cápsulas comerciales de Tocofersolán® fueron probadas en tratamiento por inmersión de semillas y por aspersión foliar en plantas de frijol a los 30 y 60 días después de la siembra bajo condiciones de campo abierto y temporal de lluvias, en un diseño experimental aleatorizado. Se tomaron datos de vigor de semillas, longitud de planta, contenido de pigmentos fotosintéticos y rendimiento de grano. Los resultados mostraron que la concentración de 50 mM aumentó la longitud de las plantas, y 100 mM aumentó el contenido de clorofila a y clorofilas totales, mientras que en el contenido de clorofila b y carotenoides no mostró un efecto significativo respecto al control. La presencia de α -tocoferol aumentó los valores en germinación de semillas, además los mejores rendimientos de cosecha se encontraron en las plantas tratadas con la concentración 100 mM.

INTRODUCCIÓN

Los tocoferoles, son cuatro moléculas de naturaleza lipídica, estructuralmente relacionadas, pero con diferentes actividades biológicas, y son parte de los compuestos incluidos dentro de la vitamina E. Su forma más conocida, el α -tocoferol, es un antioxidante sintetizado exclusivamente en los cloroplastos de organismos fotosintéticos, ya que ahí juega un papel en la protección contra especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) generadas durante la fotosíntesis¹. En plantas, el α -tocoferol protege la membrana lipídica de las células de la peroxidación, y contra el estrés oxidativo de proteínas y ADN^{1,4}. Asimismo, puede regular la expresión génica y la actividad de las enzimas, lo que puede mejorar el crecimiento y la resistencia de las plantas a diferentes factores ambientales^{2,3,5}.

En algunas investigaciones se han estudiado los efectos de la aplicación exógena de α -tocoferol en plantas, enfocados principalmente en sus efectos bajo condiciones de estrés abiótico. En otra, su aplicación foliar probó aumentar la actividad de otros antioxidantes (catalasa, guaiacol peroxidasa y superóxido dismutasa) y disminuir así los efectos del estrés salino³. En combinación con selenio, el α -tocoferol elevó el contenido de pigmentos fotosintéticos y contenido de carbohidratos en plantas de maíz⁶. En berenjena, su aplicación mediante tratamiento de semillas y aspersiones foliares probó mejorar el crecimiento de plantas sometidas a estrés hídrico⁷.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es una herbácea de la familia Fabaceae, generalmente de crecimiento anual y perenne, cultivado en todo el mundo por sus frutos en forma de vaina, los cuales se pueden consumir frescos en su etapa de ejotes, o como granos secos. Se trata de la leguminosa más importante para el consumo humano a nivel mundial, y en México es una parte importante de la dieta de la población, ya que es una importante fuente de proteínas, nutrientes esenciales y una porción significativa de carbohidratos complejos^{8,9}. Su cultivo se lleva a cabo bajo el régimen del temporal de lluvias, principalmente, y en una menor medida bajo condiciones de riego y de temporal combinada con riego¹⁰.

TEORÍA

Cuando un cultivo se encuentra bajo condiciones de temporal, las plantas se encuentran expuestas a una variedad de condiciones no controladas (suministro de agua, deficiencias en el suelo, salinidad, luz, temperatura, etc.) que les pueden generar cuadros de estrés. Uno de los estudios más relevantes sobre la importancia del tocoferol en las plantas es el llevado a cabo por Ali y sus colegas en 2022¹. En este estudio, los investigadores demostraron que el tocoferol es esencial para la protección de las células de la hoja de la planta contra el estrés oxidativo. Los resultados mostraron que las plantas deficientes en tocoferol eran más sensibles al daño oxidativo causado por la luz ultravioleta y la exposición al aire.

Actualmente, existen pocos estudios que aborden el efecto del α -tocoferol sobre plantas de frijol bajo condiciones de temporal. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos de diferentes concentraciones de α -tocoferol en la producción de frijol común variedad Peruano Higuera bajo condiciones de temporal de lluvias.

PARTE EXPERIMENTAL

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue unifactorial aleatorizado, con tres repeticiones por tratamiento, unidades experimentales consistentes en surcos de 10 plantas. Las pruebas se llevaron a cabo entre los meses de junio y noviembre de 2022, en un predio particular en la localidad de Zalamea, municipio de La Barca, Jalisco, México, cuyas coordenadas son 20.311835, -102.508176, con una altitud de 1533 msnm. Durante la preparación del suelo, se aplicó una fertilización con triple 17 y dos fertilizaciones posteriores con urea. La siembra se realizó manualmente, los días 12 y 13 de junio de 2022, en surcos con orientación de este a oeste, colocando 9 semillas por metro lineal, a 5 cm de profundidad y 75 cm de separación entre surcos (Figura 1A).

Tratamiento de semillas

Se trabajó con granos comerciales de frijol de la variedad Peruano Higuera, procurando aquellas semillas de morfología sana y uniformidad de tamaño. Las semillas fueron triplemente enjuagadas con agua destilada estéril, y luego sometidas a inmersión durante 1 hora en 10 mL de soluciones acuosas de α -tocoferol (extraído de cápsulas de Tocofersolan®) en cuatro concentraciones: 0 mM, 50 mM, 75 mM y 100 mM, a las que se adicionó 0.1% de dodecilsulfato sódico (SDS) como agente surfactante.

Aspersiones foliares

Las aspersiones foliares tuvieron lugar a los 30 días después de la siembra (DDS) mediante un pulverizador manual, recurriendo a las mismas concentraciones con las que se trabajó en el tratamiento de semillas. La segunda aspersión se llevó a cabo a los 60 DDS, luego de la aparición de los primeros frutos. Dichas aspersiones fueron llevadas a cabo entre las 8:00-9:00 a.m., permeando las hojas hasta alcanzar el punto de rocío.

Longitud de plantas

La longitud fue determinada a través de la medición en centímetros (cm) de tres plantas al azar a los 100 DDS, con ayuda de una cinta milimétrica (Surtek®). Se midió solo la parte aérea de la planta, desde el cuello de la raíz hasta las hojas del meristemo apical.

Pigmentos fotosintéticos

Para la estimación del contenido de pigmentos fotosintéticos, se recolectaron al azar hojas frescas de tres plantas distintas a los 100 DDS (Figura 1B), de las cuales se tomaron muestras de 0.1 g a las que se agregó acetona al 80% hasta ser maceradas por completo. A continuación, se llevaron a centrifugado a 8000 rpm durante 8 min y el sobrenadante fue decantado en tubos Falcon, se continuó añadiendo acetona al 80% y se repitió el centrifugado hasta agotar el tejido. La absorbancia del extracto fue medida a 470, 645 y 663 nm en espectrofotómetro, tomando la acetona al 80% como blanco.



Figura 1. Frijol 100 DDS. A. Plantas. B. Hojas.

El contenido de pigmentos se calculó aplicando las siguientes fórmulas:

Clorofila a (Cla): $\text{mg/g de tejido} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) * V / 1000 * W$

Clorofila b (Clb): $\text{mg/g de tejido} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}) * V / 1000 * W$

Clorofilas totales: $\text{mg/g de tejido} = 20.9(A_{645}) + 8.02(A_{663}) * V / 1000 * W$

Carotenoides totales: mg/g de tejido = $[1000(A_{470}) - 1.82(C_{1a}) - 85.02(C_{1b})] / 198$

Donde:

A: absorbancia a determinadas longitudes de onda

V: volumen final de extracto de clorofila en acetona al 80% (cc)

W: peso fresco de tejido (g)¹¹.

Rendimiento de grano y vigor de semillas

Las vainas de frijol se cosecharon a mano a los 120 DDS, se retiraron las semillas (Figura 2A). Se obtuvo el peso de las semillas en gramos (g) de tres plantas por cada tratamiento con una balanza analítica de precisión (A&D Company, Limited®) para determinar el rendimiento. Finalmente, se realizaron por triplicado evaluaciones del vigor de las semillas cosechadas mediante una prueba de germinación, la cual consistió en una esterilización superficial de 10 semillas con inmersión en una solución de NaClO al 50%, para después ser sembradas en papel filtro en cajas de Petri¹² (Figura 2B). Las cajas se humedecieron con agua corriente y se colocaron en oscuridad, a temperatura ambiente durante 120 horas, y se contó el número de semillas germinadas para obtener un porcentaje de germinación.



Figura 2. A. Vainas y semillas de frijol. B. Prueba de germinación de semillas.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado mediante un ANOVA simple y el método LSD de Fisher (95.0%) para determinar diferencias significativas entre las medias, con el software Statgraphics Centurion 19.

RESULTADOS

La longitud de la parte aérea aumentó significativamente en aquellas plantas de frijol tratadas con α -tocoferol a una concentración de 50 mM (61.334 cm) a los 100 DDS, mientras que las plantas sometidas a concentraciones de 75 mM y 100 mM no mostraron diferencia significativa con respecto al testigo (Figura 3). Resultados similares fueron reportados por Shafeek *et al*¹³, quienes encontraron que la aplicación foliar de vitamina E a concentraciones de 150 ppm incrementa la estatura del frijol (64.11 cm) en plantas bajo condiciones de invernadero. En especies como *Carex leucochlora*, la aplicación de α -tocoferol no mostró diferencia significativa en lo que a la estatura se refiere¹⁴. De acuerdo con Foyer y Noctor¹⁵, los antioxidantes de bajo peso molecular, como los tocoferoles, pueden influir en el crecimiento y desarrollo vegetal interviniendo en procesos como la división y elongación celular.

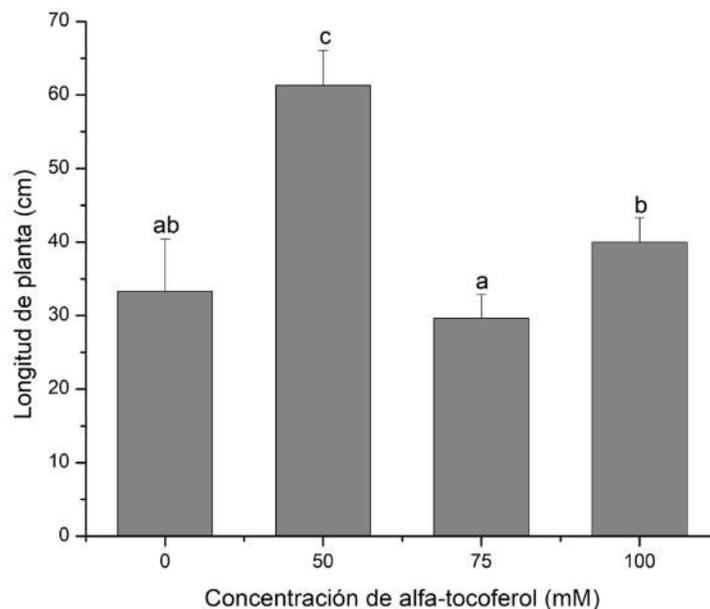


Figura 3. Longitud (cm) de plantas de frijol tratadas con α -tocoferol bajo condiciones de temporal 100 DDS. Media \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, $P \leq 0.05$).

El tratamiento de α -tocoferol a 100 mM elevó significativamente el contenido de clorofila a y de clorofilas totales en las hojas, mientras que el contenido de clorofila b no mostró diferencia significativa. La biosíntesis de α -tocoferol en los cloroplastos ha sido relacionada con la degradación de las moléculas de clorofila^{16,17}, esto como una protección de las mismas frente a ROS, por lo que se espera que la presencia de este antioxidante propiciaría un aumento en el contenido total de clorofilas. Por otro lado, la aplicación exógena de α -tocoferol no aumentó el contenido de carotenoides con respecto al control (Figura 4). Estos hallazgos contrastan con los publicados por El-Bassiouny *et al*¹⁸, los cuales reportaron que la aplicación foliar de α -tocoferol incrementó los niveles de clorofila a y carotenoides en hojas de haba (*Vicia faba*). Asimismo, Rahmawati y Damanik¹⁹, hablan de un incremento de la clorofila a en cultivos de soya (*Glycine max*) tratados foliarmente con α -tocoferol bajo estrés salino, pero sin una significancia estadística sobre el contenido de clorofila b.

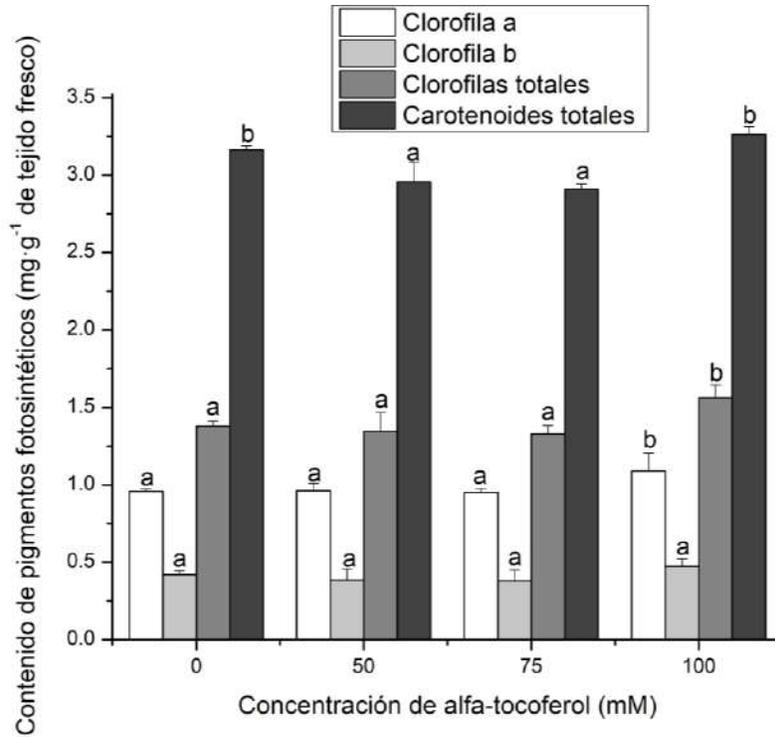


Figura 4. Contenido de pigmentos fotosintéticos (mg·g⁻¹ de tejido fresco) en hojas de plantas de frijol tratadas con α -tocoferol bajo condiciones de temporal 100 DDS. Media \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, $P \leq 0.05$).

La concentración 100 mM aumentó significativamente el rendimiento de grano frente a las demás concentraciones, y se observó un incremento de 4 veces con respecto al control (Figura 5). Este resultado coincide con los publicados por Orabi y Abdelhamid en haba²⁰. En otras especies, como caléndula²¹ y trigo²², α -tocoferol también incrementa la producción de semillas. Según Ali *et al*²², el rendimiento de semillas está directamente relacionado con la actividad fotosintética de la planta, por lo que un aumento de las clorofilas totales representaría mejoras en los rendimientos de semillas.

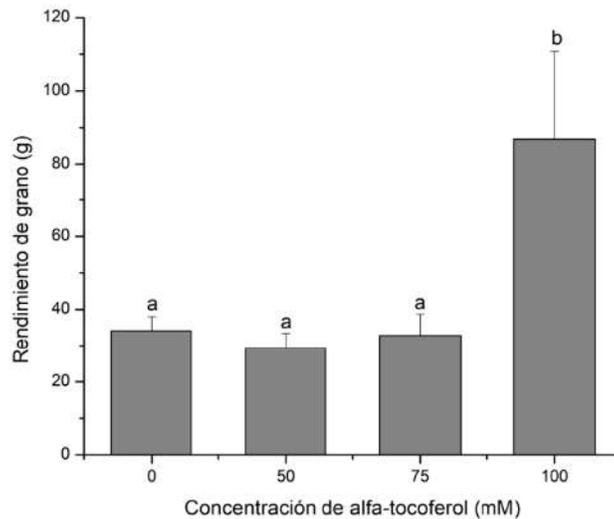


Figura 5. Rendimiento de granos de frijol (g) de plantas de frijol tratadas con α -tocoferol bajo condiciones de temporal 120 DDS. Media \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, $P \leq 0.05$).

En los resultados de las pruebas de vigor de las semillas nos mostraron que los tres niveles de α -tocoferol aumentaron el porcentaje de germinación de semillas con respecto al control a los 5 DDS (Figura 6). Este fenómeno ya se ha observado en otros miembros de la familia Fabaceae, como el garbanzo²³. Lo publicado por Lee *et al*²⁴, la presencia de tocoferoles en semillas juega un papel importante, puntualmente en la peroxidación lipídica durante la germinación. Con base en esto, se puede deducir que aquellas plantas sometidas a aplicaciones exógenas de α -tocoferol, son aptas para generar semillas más vigorosas, es decir, con una mejor capacidad de germinación.

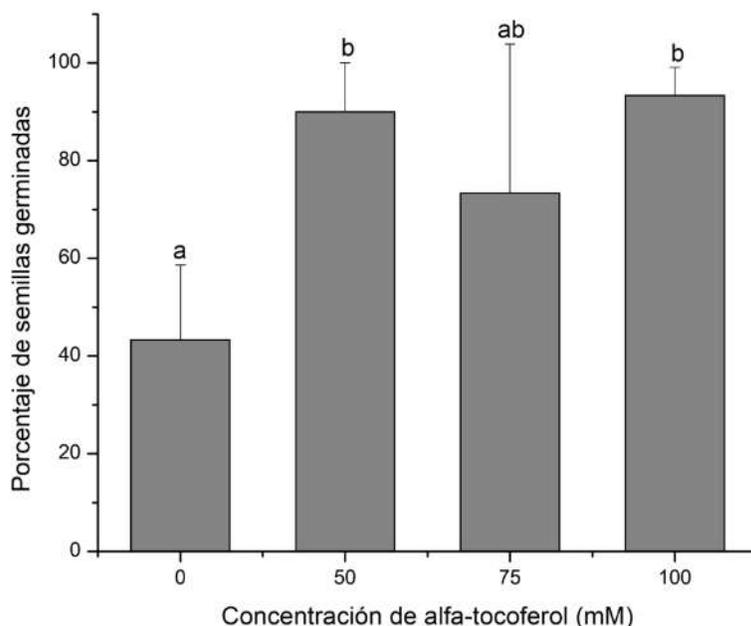


Figura 6. Porcentaje de germinación de semillas (5 DDS) cosechadas de plantas de frijol tratadas con α -tocoferol bajo condiciones de temporal. Media \pm DE con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (LSD, $P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La aplicación exógena de α -tocoferol demostró tener un efecto en el aumento de la estatura de las plantas a bajas concentraciones (50 mM), mientras que la concentración más alta (100 mM) elevó los niveles de clorofila a y clorofilas totales en las hojas, así como un aumento en el rendimiento de granos por planta. Todos los niveles utilizados de α -tocoferol mostraron un incremento en la germinación de las semillas de plantas tratadas con respecto al control. Por otro lado, el contenido de clorofila b y de carotenoides totales en las hojas no aumentó con la presencia de α -tocoferol exógeno. El efecto del α -tocoferol en rendimiento de cultivos sin condiciones de estrés se ha estudiado en menor medida que su efecto sobre cultivos en condiciones de estrés, por lo que sería menester llevar a cabo más investigaciones para llegar a conclusiones más precisas al respecto.

Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por su apoyo económico para llevar a cabo el presente trabajo, por medio de la beca (CVU) 1178464.

BIBLIOGRAFÍA

1. E. Ali, S. Hussain, N. Hussain, K. Kakar, J. Shah, Z. Raza, M. Jan, K. Zhang, M. Ali-Khan, M. Imtiaz. "Tocopherol as plant protector: an overview of Tocopherol biosynthesis enzymes and their role as antioxidant and signaling molecules". (2022). *Acta Physiologiae Plantarum*. 44 (2): 20.
2. S. Munné-Bosch "The role of α -tocopherol in plant stress tolerance". (2005). *Journal of Plant Physiology*. 162 (7):743-748.
3. M. M. Naqve, X. Wang, M. Shahbaz, S. Fiaz, W. Naqvi, M. Naseer, A. Mahmood, H. Ali. "Foliar spray of alpha-tocopherol modulates antioxidant potential of okra fruit under salt stress". (2021). *Plants*. 6 10 (7): 1382.
4. M. Havaux, F. Eymery, S. Porfirova, P. Rey, P. Dörmann. "Vitamin E protects against photoinhibition and photooxidative stress in *Arabidopsis thaliana*". (2005) *Plant Cell*. 17: 3451–3469.
5. S.E. Sattler, L. Mène-Saffrané, E.E. Farmer, M. Krischke, M.J. Mueller, D. DellaPenna. "Nonenzymatic lipid peroxidation reprograms gene expression and activates defense markers in *Arabidopsis* tocopherol-deficient mutants". (2006). *Plant Cell*. 18 (12): 3706-20.
6. R. Khalil, M. Yusuf, F. Bassuony, S. Haroun, A. Gamal. "Alpha-tocopherol reinforce selenium efficiency to ameliorates salt stress in maize plants through carbon metabolism, enhanced photosynthetic pigments and ion uptake". (2022). *South African Journal of Botany*, 144, 1-9.
7. N.A. Akram, R. Bashir, G. Ashraf, S. Bashir, M. Ashraf, M.N. Alyemini, A. Bajguz, P. Ahmad, "Exogenous α -tocopherol regulates the growth and metabolism of eggplant (*Solanum melongena* L.) under drought stress". (2023). *Plants*. 12: 237.
8. J.L. Weller, J.K. Vander Schoor, E.C. Perez-Wright, V. Hecht, A.M. González, C. Capel, F.J. Yuste-Lisbona, R. Lozano, M. Santalla, "Parallel origins of photoperiod adaptation following dual domestications of common vean". (2019). *Journal of Experimental Botany*, 70 (4): 1209–1219.
9. J.L. Corzo-Ríos, X.M. Sánchez-Chino, A. Cardador-Martínez, J. Martínez-Herrera, C. Jiménez-Martínez. "Effect of cooking on nutritional and non-nutritional compounds in two species of *Phaseolus* (*P. vulgaris* and *P. coccineus*) cultivated in Mexico". (2020). *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 20: 2-7.
10. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Cierre de la producción agrícola 1980 a 2022. Gobierno de México. (2023). [Consultado el 10 de abril de 2023]. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
11. P. Ghosh, P. Das, R. Mukherjee, S. Banik, S. Karmakar, S. Chatterjee. "Extraction and quantification of pigments from indian traditional medicinal plants: a comparative study between tree, shrub and herb". (2018). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 9 (7): 3052-3059.
12. J.I. García-López, N.A. Ruiz-Torres, R.H. Lira-Saldivar, I. Vera-Reyes, B. Méndez-Argüello. "Técnicas para evaluar germinación, vigor y calidad fisiológica de semillas sometidas a dosis de nanopartículas". (2016). 129-140.

13. M.R. Shafeek, Y.I. Helmy, A.A. Ahmed, M.A.F. Shalaby. "Productivity of snap bean plants by spraying of some antioxidants materials under sandy soil conditions in plastic house". (2014). Middle East Journal of Agriculture Research. 3 (1): 100–105.
14. Y. R. Ye, W. L. Wang, C. S. Zheng, D. J. Fu, H. W. Liu, X. Shen. "Foliar-application of α -tocopherol enhanced salt tolerance of *Carex leucochlora*". (2017). Biologia Plantarum, 61 (3): 565-570.
15. C.H. Foyer y G. Noctor. "Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses". (2005). Plant Cell. 17 (7): 1866-1875.
16. H.E. Valentin, K. Lincoln, F. Moshiri, P.K. Jensen, Q. Qi, T.V. Venkatesh, B. Karunanandaa, S.R. Baszis, S.R. Norris, B. Savidge, K.J. Gruys, R.L. Last. "The *Arabidopsis* vitamin E pathway gene5-1 mutant reveals a critical role for phytol kinase in seed tocopherol biosynthesis". (2006). Plant Cell. 18 (1): 212-224.
17. W. Zhang, T. Liu, G. Ren, S. Hörtensteiner, Y. Zhou, E.B. Cahoon, C. Zhang. "Chlorophyll degradation: the tocopherol biosynthesis-related phytol hydrolase in *Arabidopsis* seeds is still missing". (2014). Plant Physiology. 166 (1):70-79.
18. H.M.S. El-Bassiouny, M.E. Gobarah, A.A. Ramadan. "Effect of antioxidants on growth, yield, savism causative agents in seeds of *Vicia faba* L. plants grown under reclaimed sandy soils". (2005). Pakistan Journal of Agriculture Sciences. 7 (4): 653-659.
19. N. Rahmawati y R.I.M. Damanik. "Effect of foliar application of α -tocopherol on vegetative growth and some biochemical constituents of two soybean genotypes under salt stress". (2018). International Conference on Agriculture, Environment, and Food Security Sciences. 122.
20. S.A. Orabi, y M.T. Abdelhamid. "Protective role of α -tocopherol on two *Vicia faba* cultivars against seawater-induced lipid peroxidation by enhancing capacity of anti-oxidative system". (2016). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 15 (2): 145-154.
21. Y. Soltani, V.R. Saffari, A.A.M. Moud, M. Mehrabani. "Effect of foliar application of α -tocopherol and pyridoxine on vegetative growth, flowering, and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. plants". (2012). African Journal of Biotechnology, 11 (56): 11931-11935.
22. Q. Ali, S. Ali, N. Iqbal, M.T. Javed, M. Rizwan, R. Khaliq, S. Shahid, R. Perveen, S.A. Alamri, M.N. Alyemeni, L. Wijaya, P. Ahmad. "Alpha-tocopherol fertigation confers growth physio-biochemical and qualitative yield enhancement in field grown water deficit wheat (*Triticum aestivum* L.)". (2019). Scientific Reports. 9 (1): 12924.
23. H.S. El-Beltagi, S. Shah, S. Ullah. Sulaiman, A.T. Mansour, T.A. Shalaby. "Impacts of ascorbic acid and alpha-tocopherol on chickpea (*Cicer arietinum* L.) grown in water deficit regimes for sustainable production". (2022). Sustainability. 14, 8861.
24. Y. Y. Lee, H. M. Park, T. Y. Hwang, S. L. Kim, M. J. Kim, S. K. Lee, Kim, Y. H. "A correlation between tocopherol content and antioxidant activity in seeds and germinating seeds of soybean cultivars". (2014). Journal of the Science of Food and Agriculture. 95 (4): 819–827.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE MOSCAS DE LA FRUTA DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN MANGOS DE TRASPATIOS DE LOMBARDÍA, MICHOACÁN

Margarita Vargas-Sandoval, José Isaí Torres-López, José de Jesús Ayala-Ortega, Ma Blanca Nieves Lara-Chávez, Salvador Agurre-Paleo y Teresita del Carmen Avila-Val

Facultad de Biología, UMSNH, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", UMSNH, Colegio de Postgraduados.

margarita.vargas@umich.mx

RESUMEN

En el Municipio de Gabriel Zamora la plaga que genera mayores problemas para el cultivo de mango son las moscas de la fruta, ya que, por un lado, ocasiona daños a los frutos y provoca pérdidas de 10 al 25%; y por otro, la restricción de la comercialización del mango cuando ésta se encuentra presente, puesto que es una plaga cuarentenaria. Es por ello que el objetivo de esta investigación se centra en identificar las moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) y analizar su distribución en nueve huertos de traspacios de la localidad de Lombardía, Municipio de Gabriel Zamora, Michoacán. Para lo cual se seleccionó un traspacio en cada una de las nueve colonias que conforman la localidad de Lombardía, y se colocó una trampa de tipo McPhail de cristal con 250 mL para monitorear las poblaciones de mosca de la fruta. Las recolectas se realizaron con una periodicidad semanal por un lapso de seis meses, de enero a junio del año 2020. En total se realizaron 26 recolectas en cada uno de los sitios asignados, en las cuales se recolectaron un total de 312 moscas de la fruta de tres especies, *Anastrepha ludens*, *A. striata* y *A. obliqua*. La especie más abundante fue *A. ludens* con un total de 222 ejemplares recolectados (112 ♀ y 110 ♂), mientras que la presentó una mayor distribución fue *A. striata* ya que se encontró prácticamente en todas las colonias, a excepción de Lombardo Toledano. La especie menos abundante y poco distribuida fue *A. obliqua*. En cuanto a los sitios de recolecta, las colonias El Cerrito y Benito Juárez fueron las que presentaron una mayor incidencia con 180 y 68 ejemplares, respectivamente; mientras que la que presentó una mayor diversidad fue la colonia Emiliano Zapata ya que presentó todas las especies identificadas. La colonia Benito Juárez y sobre todo El Cerrito presentaron una alta incidencia de individuos de *A. ludens*, por lo que es probable que estén sirviendo como reservorios de la especie una vez que el hospedero habitual no esté presente.

INTRODUCCIÓN

México se ha consolidado como uno de los principales productores de mango en el mundo, ya que se ubica dentro de los cinco principales productores en el mundo (FAO, 2020). A la fecha existen 206,074.36 hectáreas de mango, las cuales produjeron poco más de dos millones de toneladas en el año 2019, lo cual representó ingresos por más de 9,100 millones de pesos, y aunque existen 25 entidades productoras cinco de ellas concentran el 50% del total de la producción, dichos estado son Nayarit, Chiapas, Oaxaca, Michoacán y Jalisco (SIAP, 2020).

En el estado de Michoacán el mango se produce en 30 municipios, sin embargo, Lázaro Cárdenas, Gabriel Zamora, Múgica, Parácuaro, Nuevo Urecho y San Lucas aportan tres cuartas partes de total de la producción. Entre estos municipios destaca Gabriel Zamora quien además de producir en volumen también lo hace en calidad por lo que gran parte de su producción tiene como destino los mercados internacionales de Estados Unidos de América, Canadá, Japón y Europa (SIAP, 2020).

El cultivo de mango tiene algunas limitantes para su buen desarrollo, dentro de las que se destacan la presencia de plagas y enfermedades, las cuales afectan los diferentes órganos de la planta reduciendo su actividad productiva (Espinal, 2005). En general en todos los cultivos, los diferentes órganos de la planta son afectados por patógenos e insectos que pueden ocasionar daños de importancia económica y el mango no se encuentra exento de estos problemas (Gil *et al.*, 2013).

De las 260 especies de insectos que han sido reportadas en mango, 87 se alimentan del fruto, 127 del follaje, 36 de la inflorescencia, 33 de las yemas y 25 de ramas y del tronco (Bustamante, 2000). En el Municipio de Gabriel Zamora la plaga que genera mayores problemas para el cultivo de mango son las moscas de la fruta, ya que causa tanto daños directos como indirectos. El daño directo es ocasionado cuando ovipositan las hembras en los frutos; las larvas se alimentan de la pulpa, ocasionando la caída de los frutos y su contaminación por patógenos; ocasionando pérdidas de 10 al 25% en los frutales de mango, guayaba y cítricos y los costos del control son elevados. Los daños indirectos como la restricción de la comercialización, debido a que la infestación de mosca de la fruta es uno de los graves problemas cuarentenarios del mercado internacional de frutos (Loera-Gallardo, 2017). Por lo que el monitoreo y detección, así como el conocimiento de la identidad de las moscas de la fruta, son fundamentales para el establecimiento de planes de manejo integrado de esta plaga. Así, el objetivo del presente trabajo fue identificar las moscas de la fruta (Díptera: Tephritidae) y analizar su distribución en nueve huertos de mango de traspatios de la localidad de Lombardía, Municipio de Gabriel Zamora, Michoacán.

TEORÍA

El mango (*Mangifera indica* L.) es un árbol perene de la familia Anacardiaceae, es originario del sureste asiático de la región que comprende la zona de India y Birmania a partir de ahí su cultivo se expandió a los países cercanos a partir de los siglos IV o V antes de Cristo. Posteriormente llegó a Madagascar de donde se propagó a la mayor parte del continente africano. Ya en tiempos recientes los navegantes portugueses introdujeron el cultivo al nuevo mundo específicamente a Brasil, desde donde se dispersó primeramente a Sudamérica y luego a Norteamérica. Finalmente, a Australia se introdujo hasta el siglo XIX, mientras que en Europa su cultivo no se pudo afianzar (UNCTAD, 2020).

De acuerdo con la FAO (2020), actualmente el mango se cultiva en 103 países de cuatro continentes: África. Benin, Botswana, Burkina Faso, Cabo Verde, Camboya, Camerún, Chad, Congo, Costa de Marfil, Yibuti, Egipto, Suazilandia, Etiopía, Gambia, Ghana, Guinea, Guinea-Bissau, Kenia, Madagascar, Malawi, Maldivas, Malí, Marruecos, Mozambique, Namibia, Níger, Nigeria, República Democrática del Congo, República Unida de Tanzania, Ruanda, Senegal, Seychelles, Sierra Leona, Somalia, Sri Lanka, Sudáfrica, Togo y Zimbabue. América. Antigua y Barbuda, Argentina, Bahamas, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Dominica, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos de América, Granada, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, Jamaica, México, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, San Vicente y las Granadinas, Santa Lucía, Surinam, Trinidad y Tobago y Venezuela. Asia. Bangladesh, Bután, Camboya, Chad, China, Taiwán, Emiratos Árabes Unidos, Filipinas, India, Indonesia, Irán, Israel, Japón, Malasia, Myanmar, Nepal, Omán, Pakistán, Palestina, República Democrática Popular Lao, Sudán, Sudan del Sur, Tailandia, Timor Oriental, Vietnam y Yemen. Y Oceanía. Australia, Fiyi, Islas Cook, Micronesia, Nueva Caledonia y Samoa.

Características botánicas (Figura 1): Presenta un sistema radicular denso y vigoroso con una profundidad de seis a ocho metros. El tallo es cilíndrico y generalmente recto, su diámetro varía pero puede ir desde los 30 hasta los 100 cm; su corteza es de color gris, presenta ramificaciones abundantes y su corona es oval o globular. Las hojas son oblongas o lanceoladas, el haz es coriáceo

y color verde brillante mientras que el envés es amarillo verdoso; miden de 5 a 35 cm de largo y de 2 a 10 cm de ancho, los bordes son ondulados y la nervadura central presenta de 15 a 30 nervaduras laterales. Las inflorescencias son terminales en forma de panícula cónica de color verde pálido o amarillas con centenares de flores. Las flores son monoicas y hermafroditas, miden de 5 a 10 mm, con cuatro a cinco sépalos ovalados y cuatro a cinco pétalos. El fruto es una drupa carnosa con un endocarpio coriáceo y una sola semilla; es ovalado y verde oscuro en las primeras etapas, pero cuando madura es verde claro o amarillo; de 50 gramos a 2 kilogramos. La semilla es ovoide u oblonga, rodeada por un endocarpio fibroso y puede ser monoembrionica o poliembriónica (Rodríguez *et al.*, 2002; Bally, 2006; Galán, 2009).



Figura 1. Características botánicas del mango (imágenes y composición propia).

La producción mundial de mango, mangostanes y guayabas en el año 2019 se estimó en 56,020,849 toneladas de acuerdo con datos de la Organización Mundial para la Alimentación (FAO por sus siglas en inglés). India es el principal productor de esta fruta con una aportación de 3,294,817 t, es decir, el 45.8% de la producción total mundial; posteriormente se encuentran otros productores de importancia como Indonesia quien produce el 5.9% (3,294,817 t), China con el 4.6% (2,582,791 t), México 4.2% (2,396,675 t), Pakistán 4% (2,270,229 t), Malawi 3.7% (2,083,471 t) y Brasil con el 3.6% (1,998,561 t); la producción restante data de 95 países alrededor del mundo (FAO, 2020).

México cuenta con una superficie sembrada de mango de 206,074.36 hectáreas, las cuales se encuentran distribuidas en 25 entidades, las cuales en conjunto alcanzaron una producción de 208,942,041.18 toneladas en el año 2019. Si bien el cultivo de mango se encuentra presente en la gran mayoría de los estados de la república mexicana, cinco de estos concentran poco más del 50% de la producción nacional. Dichas entidades son Nayarit quien produjo 322,154 t, Chiapas 268,373 t, Oaxaca 208,798 t, Michoacán 161,810 t y Jalisco con 114,959 t (SIAP, 2020).

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia para algunas zonas del estado de Michoacán, motivo por el cual se encuentra presente en una gran cantidad de municipios de la entidad. La producción estatal para el año 2019 se estimó en 161,810.22 t las cuales alcanzaron un valor en el mercado de 946,860,110 pesos. Aunque existen diversos municipios productores son

tres de ellos los que concentran alrededor del 50% del total de la producción estatal dichos municipios son Lázaro, Gabriel Zamora y Mújica los cuales produjeron 33,720.00, 21,860.55 y 21,505.38 t respectivamente; después de estos municipios se encuentran Parícuaro, Nuevo Urecho y San Lucas con quienes completan el 75% de la producción total del estado; mientras que el resto de los municipios aportan un alrededor de un 25 % (SIAP, 2020).

El mango es una fruta de la familia de las Anacardiáceas originaria de la India donde existen más de 1.000 variedades. Fue introducida en América por los portugueses y es un cultivo típico de zonas tropicales y subtropicales. El cultivo tiene algunas limitantes para su buen desarrollo, dentro de las que se destacan la presencia de plagas y enfermedades, las cuales afectan los diferentes órganos de la planta reduciendo su actividad productiva. En general en todos los cultivos, los diferentes órganos de la planta son afectados por patógenos e insectos que pueden ocasionar daños de importancia económica y el mango no se encuentra exento de estos problemas (Gil *et al.*, 2013).

Enfermedades: El cultivo de mango es atacado por varias enfermedades durante todo su ciclo. Las partes de la planta como el tronco, ramas, brotes, peciolos, flores y frutos se ven afectadas por diversos patógenos incluyendo hongos, bacterias y algas. Estos patógenos causan varias enfermedades como pudriciones, muerte regresiva, antracnosis, necrosis, oidium, entre otras. Algunas de estas enfermedades como antracnosis y oidium son de gran importancia económica porque causan altos daños económicos en la producción de mango (Bustamante, 2000).

Plagas: El cultivo de mango, así como otros árboles frutales es usualmente atacado por plagas, sin embargo, existen plagas secundarias y plagas ocasionales. De las 260 especies de insectos que han sido reportadas en mango, 87 se alimentan del fruto, 127 del follaje, 36 de la inflorescencia, 33 de las yemas y 25 de ramas y del tronco. Las plagas más importantes son consideradas como plagas primarias en donde encontramos los trips, las moscas de la fruta y los barrenadores; mientras que las plagas secundarias son aquellas se presenta a niveles subeconómicos, pero pueden llegar a ser plagas peligrosas como resultado de cambio en prácticas de manejo y cultivares de mango o por el uso indiscriminado de insecticidas contra las plagas principales (Bustamante, 2000).

Moscas de la fruta

Las moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae) son el complejo de plagas de mayor importancia para la fruticultura y en particular para el cultivo de mango. En México existen más de 30 especies de moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Schiner) de las cuales, cuatro son las de mayor importancia económica: *Anastrepha ludens* (Loew), *A. striata* Schiner, *A. obliqua* (Macquart) y *A. serpentina* (Wiedemann) (CESAVEM, 2015).

Las larvas son de color blanco cremoso, ápodas acéfalas, con ganchos negros en la boca. Los adultos son de colores variados, predominando el amarillo; tienen las alas transparentes con manchas y bandas longitudinales y transversales. Viven normalmente de 1 a 3 meses y las hembras alcanzan su madurez sexual a los tres o cuatro días de edad (Gil *et al.*, 2013).

Esta plaga es la que mayor importancia genera en el cultivo de mango tanto por los daños directos como por los indirectos. En los daños directos las hembras ponen sus huevos bajo el pericarpio (cáscara) de los frutos; posteriormente emergen las larvas que se alimentarán y destruirán completamente la pulpa, ocasionando en algunos casos la madurez prematura del fruto atacado; finalmente, las larvas caen al suelo para pupar y completan su ciclo de desarrollo dando origen a nuevos adultos (Gil *et al.*, 2013). En cuanto a los indirectos las moscas tienen medidas

cuarentenarias que generan impidiendo su movilización en mercados tanto nacionales como internacionales (CESAVEM, 2015).

Familia Tephritidae

La familia Tephritidae comprende en la actualidad 4,257 especies en 471 géneros a nivel mundial; en el Continente Americano se tienen 1,075 especies en 128 géneros; mientras que en México 224 especies pertenecientes a 53 géneros lo que significa el 5.3 % de la diversidad mundial (Hernández-Ortiz, 1996; Norrbom *et al.*, 1998).

Los Tephritidae se distribuyen en áreas templadas, tropicales y subtropicales en prácticamente todas las regiones del mundo, y su mayor diversidad se encuentra en los trópicos. Esta familia es uno de los grupos más diversos de Díptera a nivel mundial y, en términos generales, se les conoce comúnmente como verdaderas moscas de la fruta, debido a sus hábitos de alimentación sobre el tejido vivo de diversas plantas silvestres y cultivadas, por lo cual, algunas especies tienen gran importancia económica (Hernández-Ortiz, 2011).

Los miembros de la familia Tephritidae se caracterizan por ser organismos de tamaño pequeño a grande (2-35 mm) de colores muy variados; generalmente poseen patrones de coloración alar de formas muy diversas ya sea con bandas oscuras o amarillas, manchas hialinas redondeadas, o una combinación de ambas. La morfología corporal indica que algunas especies son miméticas de avispas, mientras que diversos patrones de coloración alar imitan a ciertas arañas. Las hembras poseen el séptimo segmento abdominal de forma cónica, dentro del cual se encuentra una estructura por lo general bien esclerosada, que se denomina ovopositor o aculeus, que le permite insertar los huevos en el tejido vivo de diversas plantas. Las características particulares tanto del patrón alar como del ovopositor tienen un alto valor taxonómico para el reconocimiento de las especies (Foote y Steyskal, 1987; Hernández-Ortiz, 2011).

Las larvas son vermiformes y poseen un cuerpo alargado o corto y ancho, son de color blanco o amarillento; el segmento anterior no forma una cápsula cefálica y posee un par de ganchos mandibulares oscuros fuertemente esclerosados, abertura bucal con varios pliegues orales; espiráculos anteriores situados en el primer segmento torácico formado por un número variable de túbulos, espiráculos posteriores localizados en el segmento caudal, conformados por dos placas con tres aberturas alargadas en cada uno de ellos (Hernández-Ortiz, 2011).

Como su nombre lo indica, las moscas de la fruta tienen hábitos fitófagos como un requerimiento indispensable para completar su desarrollo. En general, los Tephritidae son mejor conocidos por sus hábitos de alimentación en frutos y vegetales en maduración, pero también existe otro grupo compuesto por especies que particularmente se alimentan de cabezas florales o formando agallas en tallos especialmente de la familia Asteraceae (Foote *et al.*, 1993).

Durante su ciclo de vida, las hembras utilizan el ovopositor para insertar sus huevos en el tejido vivo. Las larvas presentan tres estadios de desarrollo, los cuales transcurren generalmente en un periodo de entre 20-40 días en el interior de la planta de alimentación, y cuando han completado su desarrollo abandonan las estructuras en donde se alimentan para pupar en el suelo, pero algunas forman el pupario dentro de esas mismas estructuras; el estado pupal transcurre en un periodo de 20-30 días. La duración del ciclo larvario depende en gran medida de las condiciones de humedad y temperatura, pero también de las características propias del hospedero (Headrick y Goeden, 1998).

PARTE EXPERIMENTAL

Descripción del área muestreada: El municipio de Gabriel Zamora se localiza al suroeste del estado, en las coordenadas 19°09' de latitud norte y 102°03' de longitud oeste, a una altura de 640 metros sobre el nivel del mar y cuenta con una superficie es de 367433 Km² (Figura 2). Limita al norte con Nuevo Parangaricutiro, Uruapan y Taretan, al este con Nuevo Urecho, al sur con Múgica y al oeste con Parácuaro. Su relieve corresponde a partes meridionales del sistema volcánico transversal y a la depresión del Balsas y su hidrografía se constituye por los ríos el Marqués, Santa Casilda, Barranca Honda y Tziritzicuaro; así como los arroyos de La Zorra, Las Pintadas y la Escondida y la presa del Cupatitzio. Su clima es tropical con lluvias en verano y al centro, seco estepario con lluvias en verano. Tiene una precipitación pluvial anual de 744.0 milímetros y temperaturas que oscilan de 17.0 a 35.0 grados centígrados (INAFED, 2019).

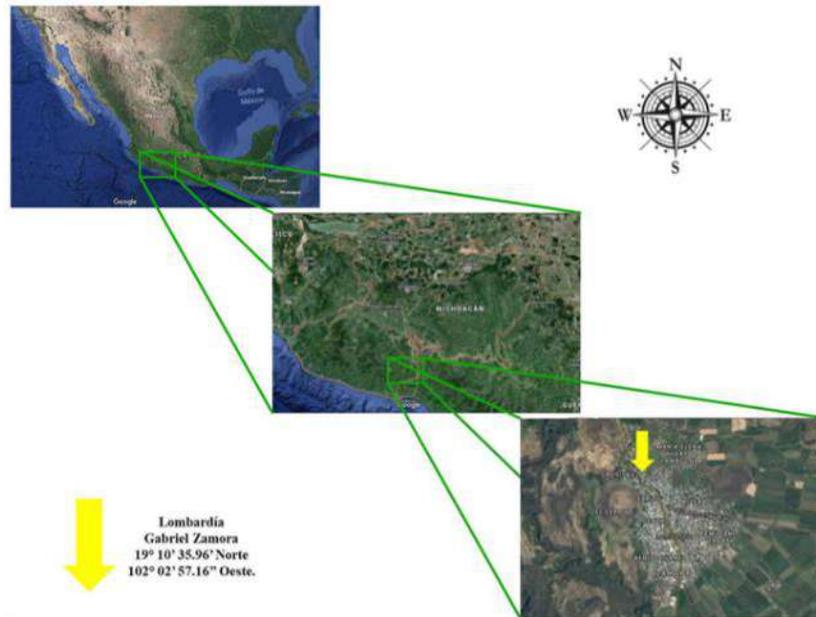


Figura 2. Localización de Lombardía, Municipio de Gabriel Zamora, Michoacán.

Sitios de recolecta: La localidad de Lombardía cuenta con nueve colonias (Cuadro 1), por lo que en cada una de ellas se seleccionó un traspatio que contara con árboles de mango, en los cuales se permitiera el acceso para colocar la trampa (Figura 3). Una vez seleccionados los traspacios se procedió a georreferenciar los sitios donde se colocaría la trampa indicando la latitud, longitud y la altura en metros sobre el nivel del mar como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Coordenadas de los sitios donde se colocaron las trampas para el monitoreo.

TRAMPA	COLONIA	LATITUD N	LONGITUD O	AMSNM
1	El Pará	19°10'10.34''	102°03'35.57''	685
2	La Antorcha	19°10'15.89''	102°02'59.96''	673
3	Las Crucitas	19°10'03.39''	102°03'47.37''	698
4	Rivera	19°09'49.97''	102°03'03.42''	645
5	El Cerrito	19°09'48.63''	102°03'34.30''	687
6	Emiliano Zapata	19°09'24.768''	102°03'27.79''	612
7	Benito Juárez	19°09'15.73''	102°03'29.77''	621
8	Lázaro Cárdenas	19°09'09.68''	102°02'57.37''	618
9	Lombardo Toledano	19°08'37.21''	102°03'27.79''	598



Figura 3. Ubicación de las trampas para el monitoreo de moscas de la fruta en Lombardía Michoacán.

Preparación del atrayente: Se utilizó un atrayente alimenticio a base de proteína hidrolizada el cual es el recomendado para el monitoreo de moscas de la fruta. Para cada 250 mL de atrayente, que es la cantidad de que se pone en cada una de las trampas, se disolvió en 235 mL de agua tibia 5 gr de bórax y posteriormente se agregó 10 mL de proteína hidrolizada. Es importante mencionar que el atrayente se preparó 24 horas antes de su utilización.

Instalación de trampas: En cada uno de los sitios de recolecta se colocó una trampa de tipo McPhail de cristal, con un total de 9 trampas. A cada una se le colocó 250 mL del atrayente y se limpió la superficie externa para evitar residuos que pudieran reducir la efectividad de dicha trampa. A su vez las trampas se colocaron en medio de ramas largas, con sombra y que el follaje de las puntas de las ramas no obstruyera la entrada. La altura a la cual se colocó fue de $\frac{3}{4}$ partes del porte del árbol o, a una altura que pudiera ser alcanzada fácilmente con el elevador telescópico el cual mide 3.5 m con el fin de reducir el extravío por robo o daños a las trampas.

Recolecta y monitoreo: Las recolectas se realizaron con una periodicidad semanal, por un lapso de seis meses, de enero a junio del año 2020. En cada una de las recolectas la trampa se descolgó cuidadosamente, se vertió el contenido de la trampa en un recipiente de plástico y se pasó por un

tamiz. Con un pincel se recolectaron las moscas de la fruta, así como otros insectos presentes y se colocaron en frascos viales con alcohol al 50% para posteriormente etiquetar el material biológico. La trampa se lavó, mientras que para eliminar el atrayente que se recogió, se realizó un orificio en el suelo y se vertió, para posteriormente tapanlo. Finalmente, se puso en la trampa 250 mL del nuevo atrayente y se colocó en el sitio donde se encontraba.

Preservación, montaje e Identificación: Para la preservación y el montaje de los organismos recolectados se utilizó la metodología propuesta por Márquez-Luna (2005). Los ejemplares fueron separados por especie y sexo, se coloraron en frascos de plástico con capacidad de 125 mL con alcohol etílico y se puso en su interior una etiqueta con los datos de recolecta. El montaje se realizó en alfileres entomológicos del número 0; para lo cual se colocó un alfiler en la región del tórax y se extendieron las alas cuidadosamente, para posteriormente dejar secar a temperatura ambiente durante 15 días. Además, se realizaron montajes especiales en placas de cartoncillo rectangulares y se fijaron los insectos sobre una gota de barniz transparente para uñas. En ambos casos se colocó una etiqueta con los datos de recolecta y taxonómicos. La identificación taxonómica se hizo con la ayuda de un microscopio estereoscópico Velab VE-S3 y se utilizaron las claves taxonómicas del Manual Técnico para la Identificación de Moscas de la Fruta de Hernández-Livera (2014) y Bautista (2006).

Toma de fotografías: Se utilizó una cámara réflex digital de 12.3 megapíxeles marca Nikon modelo D90, con un lente Macro, marca Micro-Nikkor 55mm/3.5, además de un anillo de iluminación marca Amscope, modelo 144A y un tripie. Se tomaron en promedio de diez a 20 fotografías por ejemplar en formato RAW, posteriormente se revelaron en Adobe Lighthouse Creative Cloud y finalmente, se exportó a Adobe Photoshop Cs6 y se realizó la edición, alineación y fusión. La barra de escala en todos los casos es de 5 mm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se realizaron 26 recolectas en cada uno de los sitios asignados, en las cuales se recolectaron un total de 312 moscas de la fruta de tres especies, *Anastrepha ludens* (Loew, 1873), *A. striata* (Schiner, 1868) y *A. obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) (Figura 4 A, B y C). De *A. ludens* en total se recolectaron 222 especímenes (112 hembras ♀ y 110 machos ♂; de *A. striata* 84 (46 ♀ y 38 ♂); mientras que de *A. obliqua* solo se recolectaron seis ejemplares (2 ♀ y 4 ♂); es importante señalar *A. serpentina* no se colectó en ninguno de los sitios de recolecta, ni durante el tiempo que duró el muestreo, aún y cuando se esperaba que estuviera presentes. Las especies más abundantes fueron *A. ludens* con el 72 % del total de los ejemplares recolectados; la segunda especie más abundante fue *A. striata* con el 27%, mientras que de *A. ludens* solo representó el 1% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Número de moscas de la fruta (Diptera; Tephritidae) recolectadas en nueve colonias de Lombardía, municipio de Gabriel Zamora, Michoacán.

LOCALIDAD	<i>A. ludens</i>		<i>A. striata</i>		<i>A. obliqua</i>		Total por localidad	%
	H	M	H	M	H	M		
El Pará	1	1	1	1	0	0	4	1.3
La Antorcha	3	1	0	2	0	0	6	1.95
Las Crucitas	0	0	0	1	0	0	2	0.33
Rivera	0	0	9	8	0	0	17	5.54
El Cerrito	70	87	17	9	0	0	180	58.63
Emiliano Zapata	5	3	7	10	0	2	27	8.47
Benito Juárez	32	18	11	7	0	0	68	22.15
Lázaro Cárdenas	0	0	2	0	0	2	4	0.98
Lombardo Toledano	1	0	0	0	2	0	4	0.65
Total por sexo	112	110	46	37	2	4	4	100
TOTAL POR ESPECIE	222		84		6		304	100

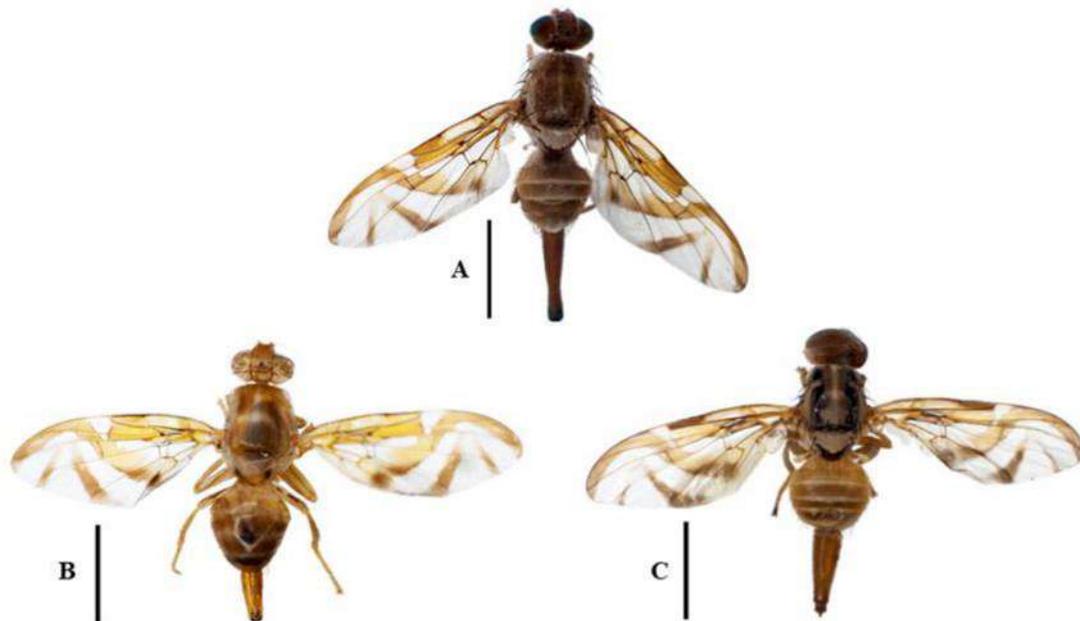


Figura 4. Moscas de la fruta recolectadas (Diptera: Tephritidae) en nueve colonias de la localidad de Lombardía. A. *Anastrepha ludens*. B. *A. striata*. C. *A. obliqua*.

Todas las colonias muestreadas presentaron al menos un ejemplar durante todo el periodo que duró la investigación. Las colonias que mayor número de ejemplares presentaron fueron Cerrito y Benito

Juárez con 180 (156 *A. ludens* y 24 *A. striata*) y 68 (50 *A. ludens* y 18 *A. striata*) respectivamente, siendo el Cerrito la única colonia en donde se colectó más de 100 ejemplares.

Los sitios en los que menor número de individuos se colectó fueron la Antorcha con seis (4 *A. ludens* y 2 *A. striata*), el Pará con cuatro (2 *A. ludens* y 2 *A. striata*), Lombardo Toledano con cuatro (2 *A. ludens* y 2 *A. obliqua*), y las Crucitas con dos ejemplares de *A. striata*.

Por su parte la colonia que presentó mayor diversidad fue Emiliano Zapata, ya que se recolectaron todas las especies identificadas, ocho *A. ludens*, 17 *A. striata* y dos *A. obliqua*. Mientras que las menos diversas fueron Las Crucitas y Rivera en donde solo se colectó 2 y 17 *A. striata*, respectivamente.

Para la especie *A. ludens* la colonia El Cerrito presentó el 70% del total de ejemplares recolectados (156), seguido por la Benito Juárez con el 23% (50) y Emiliano Zapata con 4% (8), el resto de los ejemplares recolectados (3%) se recolectó en las otras colonias positivas. Es importante mencionar que tanto la colonia El Cerrito como la Benito Juárez, presentaron una alta incidencia de individuos de esta especie, pues entre ambas aportaron el 93% del total de ejemplares recolectados por lo que es probable que dichas colonias estén funcionando como reservorios para la subsistencia de esta especie en los periodos en los cuales no hay producción de mango y una vez que la fructificación comience vuelven a atacar a su hospedero habitual.

Con respecto a *A. striata* la distribución fue mucho más equilibrada en comparación con la especie anterior, aun así, las colonias que destacaron por presentar una mayor incidencia para esta especie fueron El Cerrito con el 29% (24 ejemplares), seguida por Benito Juárez con el 22% (18), Rivera 21% y Zapata 20%, el resto (8%) se colectó en el resto de las colonias que fueron positivas para *A. striata*; si se analiza la incidencia de individuos de esta especie en cada uno de los sitios muestreados podremos observar que no hay un sitio en especial en el cual las poblaciones estén proliferando en mayor proporción con respecto al resto, por lo que podemos decir que no hay ninguna colonia que pueda servir como foco de infestación para dicha especie.

CONCLUSIONES

Se identificaron tres especies de la mosca de la fruta (Diptera: Tephritidae) asociadas a mango en nueve traspatios de la localidad de Lombardía, las cuales fueron *Anastrepha ludens*, *A. striata* y *A. obliqua*, y en las tres especies el número de machos siempre fue menor que el de hembras.

La especie más abundante fue *A. ludens* con un total de 222 ejemplares recolectados (112 ♀ y 110 ♂), mientras que la presentó una mayor distribución fue *A. striata* ya que se encontró prácticamente en todas las colonias, a excepción de la Lombardo Toledano.

La especie menos abundante y diversa fue *A. obliqua* sin embargo se reporta al mango como si principal hospedero y de amplia distribución por lo que es necesario realizar estudios que permitan saber si su presencia fue circunstancial o si se encuentra ocupado otros nichos.

En cuanto a los sitios de recolecta, las colonias El Cerrito y Benito Juárez fueron las que presentaron una mayor incidencia con 180 y 68 ejemplares respectivamente; mientras que la que presentó una mayor diversidad fue la colonia Emiliano Zapata ya que fue la única que presentó todos los ejemplares identificados.

La colonia Benito Juárez y sobre todo El Cerrito presentaron una alta incidencia de individuos de *A. ludens*, por lo que es probable que estén sirviendo como reservorios para la subsistencia de esta especie una vez que el hospedero habitual no esté presente, por lo que es importante que se establezcan medidas de control en dichas colonias para evitar que estas funcionen como un foco de infestación que pueda afectar a los huertos comerciales.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a los dueños de los traspatios muestreados y a la Coordinación de la Investigación Científica (CIC), de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por el financiamiento del proyecto en el programa 2021-2022.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bally, I.S.E. 2006. *Mangifera indica* (mango). En: Elevitch, C.R. (ed.). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii.
2. Bautista, M. N. 2006. Insectos plaga: una guía ilustrada para su identificación. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, México. 113 p.
3. Bustamante, M. 2000. Cultivo de Mango (*Mangifera indica*). Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2470/1/cultivo%20de%20mango.pdf> Fecha de consulta: 15 de mayo del 2021.
4. CESAVEM, 2015. Manejo Integrado de Mosca de la Fruta, Guía del Productor. Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de México. Disponible en: <http://cesavem.mx/img/MoscasdeLaFruta/moscasdeLaFruta.pdf> Fecha de consulta: 15 de mayo del 2021.
5. Espinal, F., 2005. La cadena de los frutales de exportación en Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio agrocadenas Colombia Una mirada global de su estructura y dinámica. Bogotá.
6. FAO. 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics División. Disponible en: http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es Fecha de consulta: 1 de mayo del 2021.
7. Foote, R. H.; Steyskal, G. C. 1987. Tephritidae, pp. 817-831 en McAlpine J.F. (ed.), Manual of Nearctic Diptera, vol.2, Research Branch Agriculture Canada.
8. Foote, R. H.; Blanc. F. L.; Norrbom, A. L. 1993, Handbook of the fruit flies (Diptera: Tephritidae) of America North of Mexico, Comstock Publ., Cornell Univ. Press, 571 pp.
9. Galán, V. 2009. El cultivo del mango. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. 2da Edición. Disponible en: <E:/Tesis%20El%20biblio/Cultivo%20del%20mango.htm> Fecha de consulta: 15 de mayo del 2020.
10. Gil, V., L. F.; Arcila C., A. M.; Achury M., R. A.; Sanabria B., M. C.; Arias B., H.; Baquero L, K. Y. 2013. Guía De Campo Para La Identificación Y Manejo De Enfermedades Y Plagas En El Cultivo De Mango. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Disponible en: (PDF) Guía de campo para la identificación y manejo de enfermedades y plagas en el cultivo de mango (researchgate.net) Fecha de consulta 24 de enero del 2021.
11. Headrick, D.H.; Goeden, R. D. 1998, The biology of nonfrugivorous tephritid fruit flies, Annual Review of Entomology 43: 217-241.
12. Hernández-Livera, R. A. 2014. Manual Técnico Para la Identificación de Moscas de la Fruta. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, Dirección General de Sanidad Vegetal. 34 p.
13. Hernández-Ortiz, V. 1996. Tephritidae (Diptera) pp. 603-617 en B.J. Llorente, A. García Aldrete y E. González (eds.), Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: hacia una síntesis de su conocimiento, UNAM.

14. INAFED, 2019. Gabriel Zamora. Disponible en: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM16michoacan/municipios/16033a.html>. Fecha de consulta: 7 de diciembre del 2021.
15. Loera-Gallardo, J. J. 2017. Mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew). Ficha técnica. Dirección General De Sanidad Vegetal, Dirección del Programa Nacional de Moscas de la Fruta. Cd. De México. 30 p.
16. Márquez-Luna, J. M. 2005. Técnicas de colecta y preservación de insectos. Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa, 37: 385 – 408.
17. Norrbom, A. L.; Carroll, L. E.; Thompson, White, I. M.; Freidberg, A. 1998, Systematic database of names, pp. 65-251 en F.C. Thompson (ed.), Fruit fly expert identification system and systematic information database, Myia vol. 9, Backhuys Publishers, Leiden.
18. Rodríguez C., M.; Guerrero B., M.; Sandoval, R. 2002. Cultivo del Mango. Guía Técnica. Centro Nacional De Tecnología Agropecuaria y Forestal, CENTA. San Salvador, El Salvador. 33 p.
19. SIAP. 2020. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>. Fecha consulta; 1 de mayo del 2021.
20. UNCTAD, 2020. Mango. Conferencia de las Naciones Unidas Sobre Comercio y Desarrollo. Disponible en: https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM_cp07_Mango_es.pdf Fecha de consulta: 1 de mayo del 2021.

BIOPELÍCULAS A BASE DE MUCÍLAGO Y NANOPARTÍCULAS CON PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

Tania Lizett Romero Guzmán, Jenny Arratia Quijada, Beatriz Adriana Andrade Espinoza y Karla Janette Nuño Anguiano

Centro Universitario de Tonalá, Universidad de Guadalajara.

tania.romero7614@alumnos.udg.mx; jenny.arratia@academicos.udg.mx

RESUMEN

Los polímeros naturales representan una alternativa viable para la formación de películas aplicadas en la elaboración de empaques de plástico para preservar la vida de anaquel de los alimentos, siendo una alternativa amigable con el ambiente al ser películas biodegradables libres de contaminación. Entre los polímeros naturales podemos encontrar a los polisacáridos, como el mucílago. Adicionalmente, es posible combinar estos polímeros con otros componentes para agregar propiedades antioxidantes o antimicrobianas a estas biopelículas mediante herramientas nanotecnológicas aplicadas en ciencias de los alimentos.

En este trabajo se desarrollaron dos biopelículas a base de mucílago y se agregaron nanopartículas de selenio como agente antimicrobiano y antioxidante. El mucílago fue extraído por ebullición, liofilizado y posteriormente, se agregaron las nanopartículas de selenio previamente sintetizadas. La actividad antimicrobiana de las películas sobre bacterias contaminantes en los alimentos se realizó mediante la técnica de difusión en agar. Los resultados mostraron que estas películas inhiben el crecimiento microbiano de *E. coli* y *Salmonella thyphimurium*. Estos resultados sugieren que el desarrollo de biopelículas a base de polímeros naturales y nanopartículas son agentes prometedores para la producción de empaques alimentarios que favorezcan la conservación de alimentos controlando el desarrollo de microorganismos patógenos, sin seguir comprometiendo el medio ambiente con el empaque plástico convencional.

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo, las personas han buscado alternativas para preservar la vida útil de sus alimentos. Actualmente, las mejores alternativas son aquellas que son más amigables con el medio ambiente al ser renovables o biodegradables. El uso de películas a base de polímeros naturales ha surgido como una alternativa a los empaques de plástico que se encuentran en algunos alimentos vegetales, siendo esta una solución al actual problema de contaminación (Muñoz-Tebar et al., 2021). Entre los polímeros naturales podemos encontrar a los polisacáridos, como el mucílago, contenidos en semillas como la chía y linaza. Actualmente, el uso de polímeros naturales, como el mucílago, que son polisacáridos compuestos de más de 10 monosacáridos unidos por uno o más enlaces glucosídicos, se consideran una de las fuentes más prometedoras para la producción de nanopartículas porque son relativamente estables y rentables (Shi et al., 2021).

Adicionalmente, es posible combinar estos polímeros con otros componentes para agregar propiedades antioxidantes o antimicrobianas a estas biopelículas. Recientemente, nuevas disciplinas como la nanotecnología han contribuido al avance en ciencias de los alimentos favoreciendo el desarrollo de empaques para el almacenamiento que permitan alargar la vida de anaquel de los alimentos al incorporar compuestos que ayuden a potenciar las propiedades antimicrobianas y antioxidantes evitando la producción de químicos tóxicos nocivos para la salud. Uno de los elementos mayormente utilizados en los procesos de la industria alimentaria es el Selenio (Se), este es un elemento esencial en la dieta humana para el adecuado funcionamiento del sistema inmunológico, teniendo funciones estructurales y enzimáticas (López et al., 2021).

En este trabajo se desarrollaron biopelículas a partir de mucílago de linaza y chía, las cuales fueron útiles para inhibir el crecimiento microbiano de *E. coli* y *Salmonella thyphimurium*. Estos resultados

sugieren que el desarrollo de biopelículas a base de polímeros naturales y nanopartículas son agentes prometedores para la producción de empaques alimentarios que favorezcan la conservación de alimentos controlando el desarrollo de microorganismos patógenos y además, siendo amigable con el medio ambiente.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis y caracterización de nanopartículas de Selenio

Para la síntesis se preparó un baño María con aceite para la conservación de la temperatura. Se preparó una solución de selenito de sodio ($\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$) a 0.01 M, y se utilizó ácido ascórbico 0.04 M como agente reductor. Una vez alcanzada una temperatura de 40°C se agregaron 500 μL cada 5 minutos hasta completar 10 mL de volumen final, manteniendo la temperatura y la agitación constante. La reacción se protegió de la luz y finalmente se almaceno a 4°C. Para confirmar la formación de nanopartículas se realizó un análisis de UV-Vis haciendo un barrido de 200-400 nm.

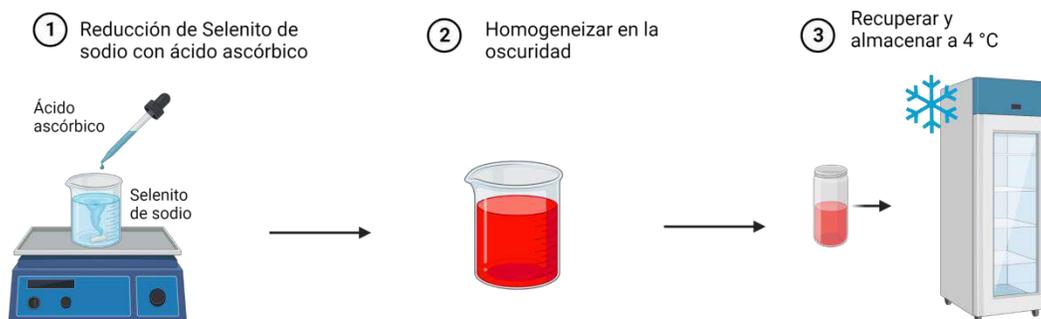


Figura 1. Procedimiento de preparación de nanopartículas de selenio por método de reducción. Creado con Biorender.com.

Extracción de mucílago

El mucílago de las semillas de chíya y linaza fue extraído de acuerdo a la metodología de Muñoz-Tebar et al. (2021) con algunas modificaciones. A diez gramos de cada muestra de semilla de chíya y linaza comercial se agregó agua destilada (1:40 p/v) en un vaso de precipitado, se ajustó el pH a 8 con NaOH 0.1 M. La extracción se realizó por 2 horas a 80 °C bajo agitación constante. La muestra se filtró sobre una gasa y se extendieron en bandejas de cristal para dejar secar por 48 horas a 37 °C. Se recuperaron las muestras de mucílago de las bandejas y se almacenaron en placas de Petri a temperatura ambiente para su uso posterior.



Figura 2. Procedimiento de extracción de mucílagos por ebullición. Creado con Biorender.com.

Formación de películas

En la preparación de las películas se siguió el procedimiento utilizado por Muñoz-Tebar et al. (2021) con algunas modificaciones. Los mucílagos secos de chía y linaza se disolvieron en agua destilada (1.5% p/v), el pH se ajustó a 9 con NaOH 0.1 M y se agitó a temperatura ambiente por 3 horas. A continuación las soluciones se calentaron a 80°C durante 30 minutos con agitación y se agregaron 35% de glicerol y 15% de Tween 80 (p/p basado el peso del mucilago seco). Después del calentamiento, las muestras se agitaron por 30 minutos a temperatura ambiente y se agregaron las nanopartículas de selenio previamente sintetizadas. Se vertieron en placas de Petri de cristal, cubiertas con aluminio, y se dejaron secar en un horno de convección de aire a 37°C por 72 horas.

Pruebas microbiológicas

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana de las películas de mucilago y linaza con nanopartículas de Selenio, se empleó la técnica de difusión en agar, basado en la técnica utilizada por Cutter (1999). Se preparó un inóculo de cada una de las cepas *Salmonella typhimurium*, *E. coli* y *Clostridium perfringes*, a una concentración 0.5 MCF. Se inocularon cajas de Petri con agar soya tripticaseína, utilizando un hisopo con muestra de las suspensiones de bacterias. Se cortaron secciones de películas de 9 mm de diámetro y se colocaron dentro de la superficie del agar previamente inoculado. Las placas fueron incubadas a 37 °C por 24 horas.

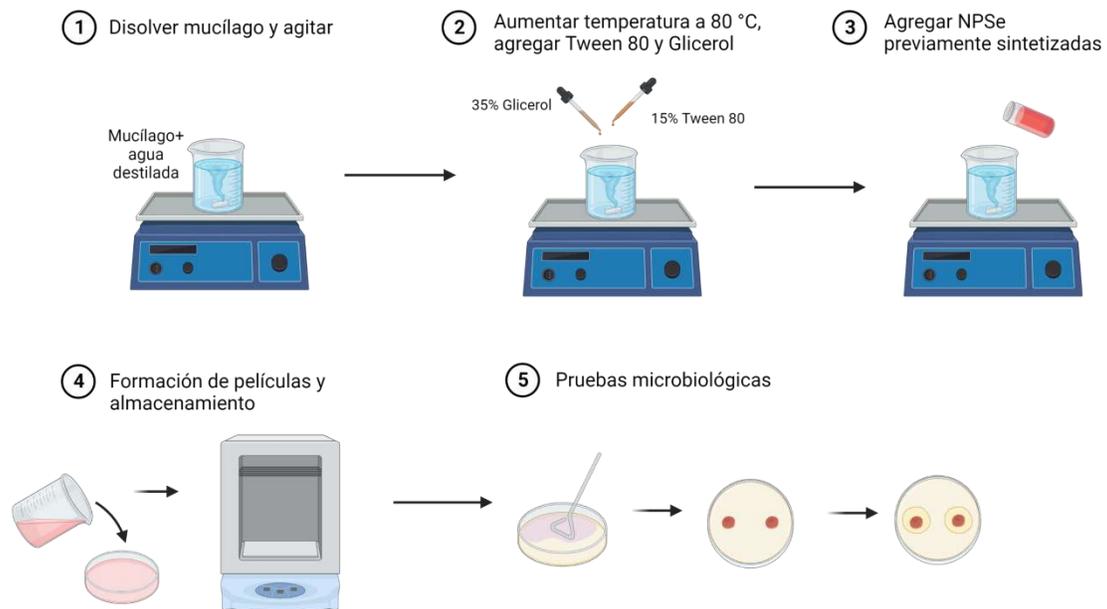


Figura 3. Procedimiento de formación de películas con incorporación de nanopartículas de selenio y pruebas microbiológicas. Biorender.com.

RESULTADOS

Síntesis de nanopartículas de selenio

La formación de las nanopartículas de selenio se monitorea mediante el cambio de color de la solución de incoloro a rubí característico, dando señales características alrededor de 200 a 400 nm³. La espectrofotometría UV-Vis suele ser la principal técnica utilizada para confirmar la formación de nanopartículas. En el espectro de Uv-Visible se observó un pico máximo característico a 265 nm, lo que indica la presencia de NPSe de diferentes tamaños. El pico de absorción máximo puede desplazarse a diferentes longitudes de onda cuando se forman compositos entre materiales poliméricos y las nanopartículas, como los señalan las observaciones de Chen et al. (2018), donde se obtuvieron señales en 318, 424 y 471 nm para compositos con nanopartículas de Se y quitosano, sugiriendo además la formación de partículas con mayores tamaños debido a las temperaturas utilizadas de 90, 120 y 150 °C, respectivamente.

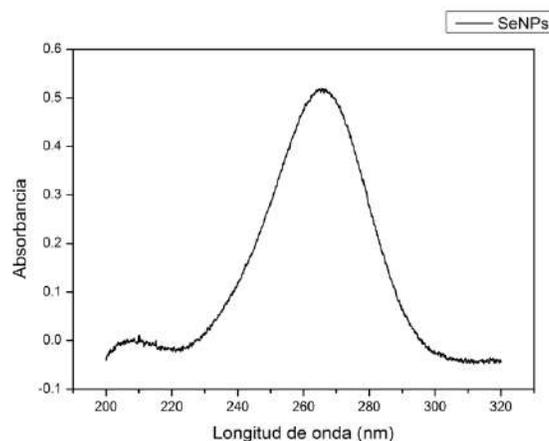


Figura 4. Espectrofotometría UV-Visible de nanopartículas de selenio.

Extracción de mucílagos y formación de películas

Mediante la técnica de Muñoz-Tebar et al., (2021), se logró realizar la extracción de mucílago de semillas de linaza y chía. El rendimiento del mucílago fue adecuado considerando que éste puede afectarse por la cantidad de líquido evaporado durante las dos horas de agitación. Durante la recuperación del mucílago resulto adecuado el uso de gasas de algodón para evitar rastros de la semilla en las muestras secas que pudieran afectar la formación de las películas. La incorporación de las nanopartículas de selenio durante la formación de películas fue exitosa considerando que la película adquiere un color marrón rojizo. Sin embargo, es necesario analizar mediante técnicas de caracterización fisicoquímica como el UV-Visible, infrarrojo y microscopía electrónica de barrido.

Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las películas formadas con chía + nanopartículas de selenio y linaza + nanopartículas de selenio, muestran un efecto antibacteriano contra las enterobacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* (Figura 5. a, b), mientras que para *Clostridium perfringens* (Figura 5. c) no hubo efecto antibacteriano (sin halo de inhibición). El diámetro de las zonas de inhibición fue de 6 y 5 mm, para *E. coli* y *S. typhimurium*, respetivamente. Resultados semejantes han sido reportado por (Filipović et al., 2021). Los efectos de inhibición en este y otros trabajos se atribuyen a las propiedades antibacterianas de las nanopartículas de selenio (Skalickova et al., 2017), considerando que la película de mucílago no muestra efecto de inhibición antibacteriana en las condiciones evaluadas.

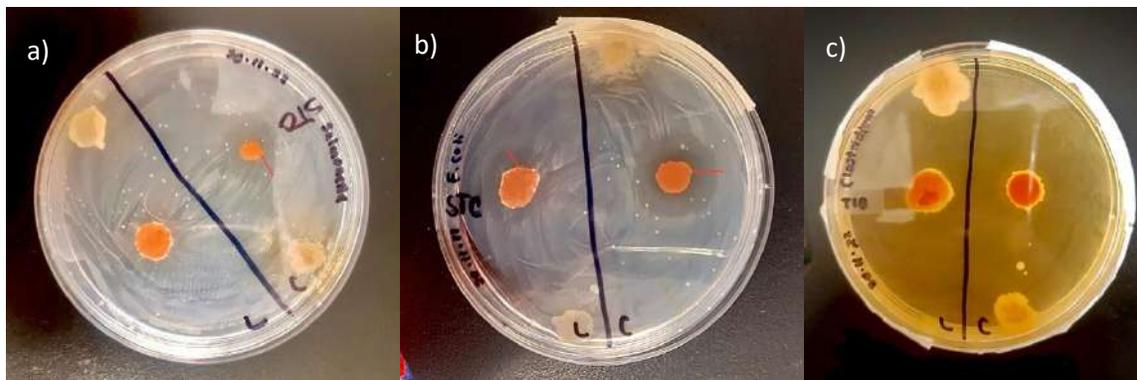


Figura 5. a) Efecto antibacteriano de películas a base mucílago de chía y linaza con nanopartículas de selenio. a) *Salmonella typhimurium*,; b) *Escherichia coli*. c) Efecto no inhibitorio en el crecimiento de *Clostridium perfringens*. Posición de películas por placa: izquierda linaza, derecha chía.

CONCLUSIONES

El uso de polímeros naturales en combinación con nanopartículas metálicas tiene un amplio potencial para el desarrollo de cubiertas que permitan evitar el crecimiento de microorganismos patógenos, mostrando aplicaciones en ciencias de los alimentos, la medicina y la agronomía. Su aplicación evita la generación de residuos a base de plásticos. Es necesario evaluar si las películas con nanopartículas de selenio muestra capacidades antioxidantes e inmunomoduladoras, como ha sido demostrado para el selenio, con lo cual su aplicación pueda extenderse a otras áreas de ciencias de la salud.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chen, W., Yue, L., Jiang, Q., Liu, X., & Xia, W. (2018). Synthesis of varisized chitosan-selenium nanocomposites through heating treatment and evaluation of their antioxidant properties. *International journal of biological macromolecules*, 114, 751-758.
2. Cutter, C. N. (1999). The effectiveness of triclosan-incorporated plastic against bacteria on beef surfaces. *Journal of Food Protection*, 62(5), 474-479.
3. López, E. A. T., Sandoval-Rangel, A., Mendoza, A. B., Ortiz, H. O., Pliego, G. C., & de la Fuente, M. C. (2021). Nanopartículas de selenio absorbidas en hidrogeles de quitosán-polivinil alcohol en la producción de pepino injertado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (26), 159-169.
4. Muñoz-Tebar, N., Molina, A., Carmona, M., & Berruga, M. I. (2021). Use of chia by-products obtained from the extraction of seeds oil for the development of new biodegradable films for the agri-food industry. *Foods*, 10(3), 620.
5. Shi, X. D., Tian, Y. Q., Wu, J. L., & Wang, S. Y. (2021). Synthesis, characterization, and biological activity of selenium nanoparticles conjugated with polysaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(13), 2225-2236.
6. Filipović, N., Ušjak, D., Milenković, M. T., Zheng, K., Liverani, L., Boccaccini, A. R., & Stevanović, M. M. (2021). Comparative Study of the Antimicrobial Activity of Selenium Nanoparticles With Different Surface Chemistry and Structure. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 624621. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.624621>
7. Skalickova, S., Milosavljevic, V., Cihalova, K., Horoky, P., Richtera, L. y Adam, V. (2017). Nanopartículas de selenio como suplemento nutricional. *Nutrición*, 33, 83-90.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS SOLUBILIZADORAS DE FÓSFORO A PARTIR DE SUELO AGRÍCOLA

Erika López Sánchez¹, Eduardo González Flores¹, Omar Flores Sanchez¹, Luis Ricardo Morales Juárez¹, Marco Antonio Meraz Melo¹

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Puebla
erika.lopez@puebla.tecnm.mx

RESUMEN

El fósforo es un nutrimento vital para el crecimiento de las plantas el cual, se encuentra en todas las células vegetales vivas y es el elemento esencial menos móvil y disponible para las plantas en la mayoría de las condiciones de los suelos agrícolas. Solo una pequeña fracción (menos del 1%) del fósforo orgánico e inorgánico se encuentra disuelta en la solución del suelo para que la planta la pueda absorber y cumplir su ciclo vital. La forma tradicional de reabastecer el fósforo de los suelos agrícolas es aplicando fertilizantes químicos. La fertilización química en el largo plazo perjudica los suelos agrícolas, impactando ambientalmente el suelo y el subsuelo. Una alternativa sustentable para aprovechar el fósforo acumulado y no disponible en suelos agrícolas es transformar los fosfatos presentes, a formas solubles, utilizando microorganismos nativos del suelo que posean esta capacidad. El objetivo de esta investigación fue aislar microorganismos solubilizadores de fósforo a partir de suelos agrícolas. Se recolectaron y analizaron muestras de suelos agrícolas de la región de Libres-Serdán. Para la preparación de las muestras se tomó 1g de muestra, en 10 ml de NaCl estéril al 0.9%, agitar durante 30 min e inocular en cajas Petri, por el método de estría simple, en medio nutritivo Mueller-Hinton, incubar a 32°C por 24 hrs. Las colonias que presentaron forma redonda e independiente se sembraron en placas de medio nutritivo Mueller Hinton, a 32°C durante 24 hrs. Para confirmar la presencia de bacterias solubilizadoras de fosfato, se sembró en placas de medio selectivo NBRIP, a 32°C durante 48 hrs, se seleccionaron las bacterias que mostraron actividad solubilizadora de fosfato la cual se ve representada por el vire de color. Por medio de la técnica de tinción gram y la observación en microscopio óptico utilizando un aumento de 100x se observó que los microorganismos solubilizadores de fósforo obtenidos de las muestras de suelo eran bacilos (Schaad, Jones and Chun, 2001).

INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo más importante de México. El fósforo es un elemento esencial para el cultivo de maíz durante todas las etapas del desarrollo de la planta. Los nutrientes disponibles en el suelo generalmente limitan la producción de maíz. La planta toma al fósforo de la solución del suelo como ion ortofosfato primario ($H_2PO_4^-$), también se absorbe como ortofosfato secundario (HPO_4^{2-}). La respuesta de los cultivos a la fertilización fosfatada depende del nivel de fósforo disponible en suelo, pero también es afectada por factores del suelo, del cultivo y de manejo del fertilizante. Entre los factores del suelo, se destacan la textura, la temperatura, el contenido de materia orgánica y el pH; mientras que entre los del cultivo deben mencionarse los requerimientos y el nivel de rendimiento (García, 2014).

El fósforo está involucrado en varias funciones clave de la planta, incluida la transferencia de energía, la fotosíntesis, la transformación de azúcares y almidones, el movimiento de nutrientes dentro de la planta y la transferencia de características genéticas de una generación a la siguiente. El fósforo entra a la planta a través de los pelos de la raíz, las puntas de las raíces y las capas más externas de las células de la raíz. La absorción también se ve facilitada por los hongos micorrícicos que crecen en asociación con las raíces de muchos cultivos (Sultenfuss & Doyle, 1999).

Los suelos tienen una elevada capacidad para fijar fósforo, lo que ocasiona una tendencia a acumular el fósforo incorporado por los fertilizantes químicos. Esta acumulación es conocida como “el legado de fósforo”(Zhu, Li, & Whelan, 2018).

Algunos estudios han sugerido que el fósforo acumulado en suelos agrícolas puede ser suficiente para sostener máximos rendimientos de los cultivos a nivel mundial por los próximos 100 años, si este fósforo estuviera disponible. Los suelos agrícolas contienen grandes cantidades de fosfatos insolubles que solo pueden convertirse en formas asimilables para las plantas en el mediano y largo plazo mediante la acción microbiana (Khan, Zaidi, & Wani, 2007).

TEORÍA

El mundo de la agricultura en las últimas décadas ha dependido profundamente de los fertilizantes químicos como fuente de nutrientes para satisfacer la creciente demanda de alimentos. Por el contrario, en los últimos años, los científicos ambientalistas y agrícolas se han dado cuenta de que el uso continuo y persistente de fertilizantes químicos agota el suelo y causa contaminación ambiental y desigualdad en la actividad microbiana del suelo. Por lo tanto, se está creando una mayor conciencia sobre el uso de productos orgánicos junto con los biofertilizantes para mantener la riqueza del suelo y la productividad de la planta (Sadiq, Jahangir, Nasir, Iqtidar, & Iqbal, 2013).

La fertilidad del suelo puede ser evaluada con base en sus características físicas (densidad, estructura, porosidad, etc.), químicas (actividad de las arcillas, potenciales de óxido-reducción, materia orgánica, etc.) y biológicas (microorganismos que conforman la microflora y microfauna, además de la meso y macrofauna). Las interacciones que se derivan de estas tres características producen cambios significativos en los ciclos biogeoquímicos del suelo y en la disponibilidad de nutrimentos para las plantas. Además, estas interacciones permiten que las comunidades vegetales también contribuyan a la estabilidad del suelo como componente integral del ecosistema (Ferrera Cerrato & Alarcón, 2001).

Las plantas no pueden subsistir únicamente con aire y agua, requieren además de varios elementos minerales, como nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, calcio, magnesio, hierro y otros, que generalmente son absorbidos del suelo o de medio nutritivo en los cultivos hidropónicos, por las raíces. A pesar de que estos elementos minerales sólo se encuentran en concentraciones de 2 a 10% del peso seco de las plantas, no dejan por ello de ejercer una influencia vital sobre el crecimiento (Alcántar G. G, Trejo-Téllez, 2007).

Dado el gran número de elementos que se encuentran en las plantas, pueden ser divididos de acuerdo con su nivel de requerimiento por las plantas en indispensables, útiles y prescindibles (Tabla 1) (Alcántar G. G, Trejo-Téllez, 2007).

Tabla 1. Clasificación de los elementos minerales de acuerdo con el nivel de requerimiento por las plantas.

Clasificación	Requerimiento por las plantas
Elementos indispensables	Aquellos de importancia vital para la nutrición de la planta. Son C, H, O, N, P, S, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo, Ni y Cl.

Elementos útiles	Los elementos que en una forma directa o indirecta benefician la nutrición de las plantas superiores o de algunos grupos específicos de éstas, sin ser indispensables en la nutrición vegetal (Si, Co, Na)
Elementos prescindibles	Elementos que son absorbidos por la planta, pero que no realizan funciones fisiológicas específicas, ni benefician directa o indirectamente el crecimiento de las plantas.

(FUENTE: Alcántar G. G, Trejo-Téllez, 2007)

Con base en las cantidades que se encuentran en las plantas, los nutrimentos vegetales pueden ser divididos en macronutrientes y micronutrientes (Tabla 2). Los macronutrientes, su concentración en el tejido vegetal seco es mayor a 1000 mg kg⁻¹ (ppm), mientras que los que se encuentran contenidos debajo de 500 mg kg⁻¹ (ppm) son considerados como micronutrientes. En cuanto a los macronutrientes, el N y el K normalmente se encuentran contenidos en el material vegetal seco en un intervalo de 0.8 a 5% (8000 a 50000 ppm), mientras que el P y el Mg generalmente se presentan en niveles de 0.5 a 0.65% (5000 a 6500 ppm) (Alcántar G. G, Trejo-Téllez, 2007).

Tabla 2. Clasificación de los nutrimentos con base en las cantidades requeridas por las plantas.

	MACRONUTRIENTES	MICRONUTRIENTES
MACRONUTRIENTES PRIMARIOS	Carbono (C)	Cloro (Cl)
	Hidrógeno (H)	Hierro (Fe)
	Oxígeno (O)	Manganeso (Mn)
	Nitrógeno (N)	Cobre (Cu)
	Fósforo (P)	Zinc (Zn)
MACRONUTRIENTES SECUNDARIOS	Potasio (K)	Boro (B)
	Azufre (S)	Molibdeno (Mo)
	Calcio (Ca)	Níquel (Ni)
	Magnesio (Mg)	

(FUENTE: Alcántar G. G, Trejo-Téllez, 2007)

PARTE EXPERIMENTAL

Para la realización de este estudio se seleccionaron tres suelos en los cuales se cultiva maíz en los valles altos de la región Libres-Serdán. Se tomaron muestras compuestas de cada uno. Se les determinaron las siguientes pruebas: textura, pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, fósforo disponible, macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) y micronutrientes (Co, Fe, Mn, Zn). Para la preparación de las muestras se tomó 1g de muestra, en 10 mL de NaCl estéril al 0.9%, agitar durante 30 min e inocular en cajas Petri, por el método de estría simple, en medio nutritivo Mueller-Hinton, incubar a 32°C por 24 h (Tabla 3). Las colonias que se aislaron presentaban forma redonda, elevada y se encontraban separadas de las demás, las cuales se resembraron en placas de medio nutritivo Mueller Hinton, se incubaron a 32°C durante 24 h (Figura 1). Después se suspendió una colonia de la placa de cultivo en 1 mL de solución salina estéril, se agitó y se centrifugó a 2500 rpm por 5 min. De la suspensión se tomaron 50 µL para inocular en 50 mL de medio nutritivo Mueller Hinton, se incubaron a 32°C durante 24 h (Figura 2). Después se tomaron 50 µl del medio nutritivo y se inocularon a 50 ml de medio selectivo NBRIP (National Botanical Research Institute Phosphate) formulado por Nautiyal (1999) al cual se le añadió azul de bromofenol como indicador de pH a una concentración de 0,025 g/L, lo cual permite identificar un cambio de pH a más ácido por un cambio de coloración. Se incubaron a 32°C. Se usó $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ como fuente de fosfato para evaluar la capacidad de las cepas para movilizar fuentes de fosfato inorgánicas u orgánicas respectivamente. El pH inicial del medio sin inocular fue de 3.34 (Figura 3). Para confirmar la presencia de bacterias solubilizadoras de fosfato, se sembró en placas de medio selectivo NBRIP (Figura 4). Las placas se incubaron a 32°C durante 48 h. Al final del período de incubación se seleccionaron las bacterias que mostraron actividad solubilizadora de fosfato la cual se vio representada por el vire de color.

Figura 1. Desarrollo del microorganismo en el medio Mueller-Hinton a 32°C durante 24 h



Figura 2. Resiembra en medio nutritivo Mueller-Hinton a 32°C durante 24 h



Figura 3. Incubación de microorganismos en medio selectivo NBRIP



Figura 4. Desarrollo de microorganismos en el medio NBRIP. Incubación a 32°C por 48 h.



RESULTADOS

Los resultados de las características fisicoquímicas del suelo se muestran en la Tabla 3. Se observa que los tres suelos muestran un pH similar y la misma textura franco-arenosa. El suelo número uno tiene el mayor contenido de materia orgánica y el suelo número tres la mayor concentración de fósforo disponible.

Tabla 3. Caracterización de suelos:

PARÁMETR	UNIDAD	SUELO 1	SUELO 2	SUELO 3
O	ES	1	2	3
pH		7.45	7.29	5.53
M. O	%	2.37	0.89	0.89
Nt	%	0.123	0.046	0.055
Arena	%	74.4	75.4	76.4
Limo	%	20	19	18
Arcilla	%	5.6	5.6	5.6
Textura		Franco arenoso	Franco arenoso	Franco arenoso
Ca	cmol _c /kg	10	5.2	2.4
Mg	cmol _c /kg	3	2	0.8
Na	cmol _c /kg	0.4	0.3	0.3
K	cmol _c /kg	1.5	0.7	0.2

CIC	cmol _c /kg	8.3	5.9	5
P	mg/kg	8.5	6.3	10.7
DA	g/ml	1.4	1.42	1.41
CE	dS/m	0.64	0.64	0.27

Por medio de la técnica de tinción de gram y la observación en microscopio óptico utilizando un aumento de 100x se observó que los microorganismos solubilizadores de fósforo obtenidos de las muestras de suelo eran bacilos spp¹ (Figura 5).

Figura 5. Bacterias observadas en microscopio óptico 100x



CONCLUSIONES

- Los suelos estudiados muestran un contenido medio de fósforo disponible (Método Olsen).
- De acuerdo a lo observado en el microscopio los microorganismos solubilizadores de fósforo son Bacilos spp.
- Se debe realizar un diseño experimental en condiciones de invernadero utilizando el maíz como planta indicadora para determinar si el microorganismo genera un mayor contenido de fósforo en la planta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Awais, M., Tariq, M., Ali, A., Ali, Q., Khan, A., Tabassum, B., ... Husnain, T. (2017). Isolation, characterization and inter-relationship of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of sugarcane and rice. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 312–321.
2. Ferrera Cerrato, R., & Alarcón, A. (2001). La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Erga Sum*, 8(2), 175–183. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/104/10402108.pdf>
3. García, F. O. (2014). Criterios para el manejo de la fertilización del cultivo de maíz. *International Plant Nutrition Institute*, (April), 1–19.
4. Khan, M. S., Zaidi, A., & Wani, P. A. (2007). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review. *Agronomy for Sustainable Development*, Springer, 27(1), 29–43. <https://doi.org/10.1051/agro>
5. N.W.Schaad, J.B. Jones and W. Chun, "Laboratory Guide for identification of plant

- pathogenic bacteria*", Third Edition (APSPRESS, St. Paul, Minnesota, 2001), Chapter 1, pp. 1-15.
6. Sadiq, H. M., Jahangir, G. Z., Nasir, I. A., Iqtidar, M., & Iqbal, M. (2013). Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere soil. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 27(6), 4248–4255. <https://doi.org/10.5504/bbeq.2013.0091>
 7. Sultenfuss, J. H., & Doyle, W. J. (1999). Better Crops with Plant Food: Phosphorus for Agriculture. *Better Crops*, 83(1), 1–40. Retrieved from www.ppi-far.org
 8. Tejera-Hernández, B., Heydrich-Pérez, M., & Rojas-Badía, M. M. (2013). Aislamiento de *bacillus* solubilizadores de fosfatos asociados al cultivo del arroz. *Agronomía mesoamericana*, 24(2), 357–364.
 9. Zhu, J., Li, M., & Whelan, M. (2018). Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. *Science of the Total Environment*, 612, 522–537.

EFFECTO DE EXTRACTOS DE HOJA DE MUÉRDAGO Y QUITOSANO EN PLANTAS DE JITOMATE EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Frida Cecilia Gamiño Guerrero, Graciela Alejandra Vallecillo Ramírez, Luis Angel Xoca Orozco, José de Jesús Flores Sierra

Tecnológico Nacional de México/ITS de Purísima del Rincón
fridagamino11@gmail.com

RESUMEN

El muérdago (*Psittacanthus calyculatus*) es una planta hemiparásita que afecta diversas especies vegetales de gran importancia para el ecosistema, afectando directamente especies que se encuentran en el Área natural Protegida Cerro del Palenque ubicada en la región de los pueblos del Rincón Gto. Su principal hospedero en esta región es el mezquite. El mecanismo de dispersión de las semillas de muérdago es zoócoria; es decir, se dispersa con ayuda de animales, siendo los frutos o bayas carnosas de vistoso colorido que atraen la atención de aves frugívoras¹ de ahí parte su dificultad para controlar esta planta parásita. Es por eso por lo que se planteó una evaluación de los extractos de esta especie, en plántulas de jitomate en condiciones de invernadero permitiendo valorar la reacción de estas plántulas, así como las características fisiológicas y de producción a lo largo de los tratamientos. Además, se integró la evaluación con quitosano como un polímero natural utilizado en el área agricultora como un potenciador que crecimiento en plantas², para comparar la actividad en la planta con el extracto de muérdago. Posteriormente se realizó una extracción sólido-líquido utilizando agua destilada, preparando 4 tratamientos, 2 concentraciones diferentes de muérdago, extracto de muérdago-quitosano y quitosano solo, para ser aplicadas a un total de 80 plántulas, 20 destinadas a cada uno de los tratamientos. La evaluación fisiológica de la planta se llevó a cabo con la recopilación de altura, número de ramas adyacentes, número de hojas y tamaño y peso de raíz. La evaluación productiva fue con la recopilación de la producción de flores, y producción de frutos expresados en kg de cada tratamiento. Como resultado tenemos que la recopilación de datos dio una mayor cantidad de flores producidas por el tratamiento con mayor concentración de extracto de muérdago, así como también la producción de jitomates resultó con una mayor cantidad de kg sobre los demás tratamientos. Esto nos permite tener evidencias sobre el efecto que tienen los extractos de muérdago y su utilidad para el planteamiento de una futura aplicación en plantas de invernadero.

INTRODUCCIÓN

Hay un creciente interés en el desarrollo de estrategias alternativas en el manejo de enfermedades de las plantas para reducir la dependencia de los productos químicos sintéticos³.

Jitomate es el nombre común que se le ha dado a una planta herbácea de tallo voluble y largo. Tiene un sistema radicular pivotante, profundo y poco ramificado. Sus tallos y sus ramas son de consistencia herbácea, por lo cual la planta no se sostiene por sí sola y es necesario el empleo de tutores para su sostén⁴. Son uno de los cultivos hortícolas más difíciles producir con muchos procedimientos que se deben seguir para asegurar una cosecha saludable y productiva⁵.

El muérdago es *Psittacanthus calyculatus* (DC.) G. Don (Lo- Ranthaceae), un muérdago mexicano, con alta prevalencia en la región central de México y que infesta más del 65% del mezquite (*Prosopis laevigata*), árbol endémico de esta región⁶. Las propiedades anticancerígenas, inmunomoduladoras,

cardíacas, antidiabéticas, hepatoprotectoras, neurofarmacológicas, antibacterianas y antifúngicas de los extractos de muérdago han sido las más estudiadas⁷.

Por otro lado, el quitosano biocompatible, biodegradable y no tóxico. Tiene un inmenso potencial inexplorado que puede ayudar a hacer realidad la agricultura sostenible⁸. El quitosano induce la formación de calosa, actúa como inhibidores de la proteinasa y ayuda en la biosíntesis de fitoalexinas. El quitosano es un modulador de las defensas de las plantas. Los endófitos y los hongos patógenos evaden la inmunidad de las plantas al convertir la quitina en quitosano⁹ Abriendo apertura a la aplicación de tratamientos en base a extractos de muérdago y quitosano y la evaluación de extracto de muérdago y quitosano.

TEORÍA

El extracto de muérdago de hoja de la especie *Psittacanthus calyculatus* tiene propiedades que son beneficiosas para las características fisiológicas y de producción del jitomate y chile.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron tratamientos con extractos de hoja muérdago, extracto de hoja de muérdago+quitosano, quitosano y plantas sin tratamiento como testigo. Para esto, el extracto de muérdago se obtuvo de la hoja, las muestras se lavaron, deshidrataron y molieron. Posteriormente se realizó una extracción sólido-líquido utilizando agua destilada, preparando 4 tratamientos, 2 concentraciones diferentes de muérdago (PEH1=0.001228 mg/L, PEH2=0.000614 mg/L), extracto de muérdago-quitosano (PHQ= 0.0009456 mg/L + 75 mg/L) y quitosano (PQ= 75 mg/L) solo, con un pH ajustado de 5.6, para ser aplicadas a un total de 80 plántulas, 20 destinadas a cada uno de los tratamientos. La evaluación fisiológica de la planta se llevó a cabo con la recopilación de altura, número de ramas adyacentes, número de hojas y tamaño y peso de raíz. La evaluación productiva fue con la recopilación de la producción de flores, y producción de frutos expresados en kg de cada tratamiento.

RESULTADOS

En las evaluaciones fisiológicas de las plántulas de jitomate (Figura 3) se muestra una comparativa del promedio de altura en centímetros de cada tratamiento y el control empezando con la semana de inicio del tratamiento (S0) y finalizando hasta la semana 5 (S5) (A) demostrando que el tratamiento con extracto de muérdago y quitosano da como resultado plántulas más altas, sin embargo, no se muestran diferencias mayores a 5 cm entre tratamiento. El promedio de ramas de al tallo de la plántula cada tratamiento de S0 a S5 demuestra un número de ramas adyacentes mayor para el tratamiento de PEH1, y terminando con el tratamiento de quitosano después de la poda realizada en la semana 4 (B). Como resultado de la sumativa de hojas en las plántulas de jitomate, el tratamiento PEH2 en las demostró tener una cantidad mayor de acumulado de hojas en comparación a los demás tratamientos (C).

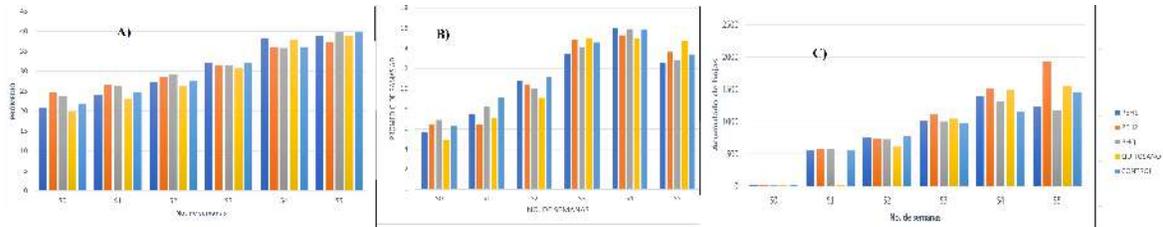


FIGURA 1. Evaluaciones Fisiológicas. A) Promedio altura en centímetros, B) Promedio de ramas Adyacentes al tallo, C) Acumulado No. De Hojas

Como resultado tenemos que la recopilación de datos dio una mayor cantidad de flores producidas por el tratamiento con mayor concentración de extracto de muérdago, así como también la producción de jitomates resultó con una mayor cantidad de kg sobre los demás tratamientos. Esto nos permite tener evidencias sobre el efecto que tienen los extractos de muérdago y su utilidad para el planteamiento de una futura aplicación en plantas de invernadero.

Como parte de las evaluaciones productivas de las plántulas de Jitomate se demuestra una comparativa del acumulado de flores de cada tratamiento y el control empezando con la semana de inicio del tratamiento (S0) y finalizando hasta la semana 12 (S12) (Figura 2), arrojando como resultado que el tratamiento PEH1 tiene un número mayor de producción de flores con respecto a los demás tratamientos.

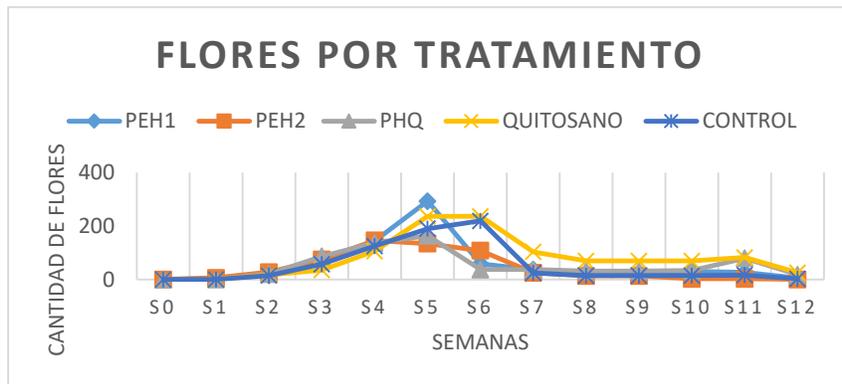


FIGURA 2. Acumulado de flores especie ESJ1

Se arrojó como resultado que las plántulas sin tratamiento (Testigo) tiene un número mayor de producción de jitomates con respecto a los demás tratamientos, más sin embargo se demuestra (Tabla 1) que el tratamiento PEH1 produce frutos más pesados, al igual que el tratamiento PQ.

Producción Especie ESJ1

TRATAMIENTO	PEH1	PEH2	PHQ	PQ	Testigo
PESO (GRAMOS)	2604.416	2033.25	1956.658	3119.53	4037.36
CANTIDAD DE JITOMATE	61	88	68	77	124
PESO PROMEDIO EN GRAMOS	42.69	23.1	28.77	40.52	32.55

TABLA 1. Producción de total de jitomates de los tratamientos

CONCLUSIONES

Cómo resultado de la aplicación de tratamientos se destaca en tamaño de frutos dados por el extracto de la especie *Psittacanthus calyculatus*, dando frutos más grandes, más sin embargo en la poca existencia de estudios relacionados con el extracto de *Psittacanthus calyculatus*, en el área productiva del jitomate, podemos concluir:

Los compuestos fenólicos tienen varias funciones en las plantas, incluida la influencia en la formación de órganos como raíces y brotes y la protección contra el estrés oxidativo, así como la presencia de ácidos fenólicos posiblemente contribuye a su eficacia contra las tensiones bióticas y abióticas demostrado¹⁰ de los cuales compuestos fenólicos como el ácido cafeico, ácido protocatequiico, que se encuentran en el extracto de la especie *Psittacanthus calyculatus*, son identificados como potenciales agentes alelopáticos que inhiben el crecimiento, tales sustancias químicas en ciertas concentraciones más bajas también pueden provocar efectos de estimulación en diferentes órganos de la planta.

Por otro lado, la producción de flavonoides específicos y la acumulación en ciertos tejidos vegetales después de la estimulación externa o interna no son explicados de forma extensa, sin embargo, los flavonoides son muy efectivos en ciertas interacciones planta-microbios en la rizosfera y pueden tener efectos en la lucha contra el estrés biótico y abiótico¹¹.

Por otro lado, los resultados arrojados de las aplicaciones de quitosano también resulta ser una excelente alternativa, debido a la capacidad de combatir la infección de hojas a lo largo de las semanas, así como la producción de jitomates de mayor tamaño como segundo plano, de próximo al extracto de *Psittacanthus calyculatus*, destacando la continuidad en la producción de flores cuando las evaluaciones en el demás tratamiento finalizaron.

Más sin embargo las plántulas de chile solo fueron evaluadas de forma fisiológica, de la misma forma se mostraron resultados precarios, descartando la posibilidad de futuras aplicaciones, debido a lo obtenido en esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Vazquez C., I. et al. (2006) Los muerdagos (Loranthaceae) en Michoacán
- 2) REYES-PEREZ, Juan José et al. Effect of chitosan on variables of tomato growth, yield and nutritional content. Rev. Mex. Cienc. Agríc [online]. 2020, vol.11, n.3, pp.457-465. Epub 30-Ago-2021. ISSN 2007-0934.
- 3) El-Mohamedy, R. S. (2019). Antifungal activity of chitosan nanoparticles against some plant pathogenic fungi in vitro. AgricEngInt.
- 4) SAGARPA. (2022). Jitomate Mexicano. Obtenido de Planeacion del cultivo: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>
- 5) Snyder, R. G. (s.f.). Greenhouse Tomato Handbook. University Mississippi Estension Service.
- 6) García-García, J., & Anguiano-Cabello, J. (2021). Phytochemical Characterization of Phoradendron bollanum and Viscum album subs. austriacum as Mexican Mistletoe Plants with Antimicrobial Activity. PLANTS. doi:<https://doi.org/10.3390/plants10071299>
- 7) Szurpnicka. (2020). Biological activity of mistletoe: in vitro and in vivo studies and mechanisms of action. Arch. Pharm.
- 8) Pandey, P. (2018). Chitosan in Agricultural Context-A Review. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences.
- 9) Lopez-Moya, F. (2019). Molecular Mechanisms of Chitosan Interactions with Fungi and Plants. NIH.
- 10) Aremu, A. O. (2015). Evidence of phytohormones and phenolic acids variability in garden-waste-derived vermicompost leachate, a well-known plant growth stimulant. . Original Paper .
- 11) Shah, A., & Smith, D. L. (2020). Flavonoids in Agriculture: Chemistry and Roles in, Biotic and Abiotic Stress Responses, and Microbial Associations. Agronomy.

MÉTODOS PREGERMINATIVOS EN DELONIX REGIA

Cesar Cristobal Hernández, Dulce Jasmin Mora Ojendiz, Ebert Eloi Moran Valdez, Lucelia Mora Ojendiz

Universidad Intercultural del Estado de Guerrero
cesar-uaaan@hotmail.com

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue realizado en el laboratorio de suelos ubicado en las instalaciones de la Universidad Intercultural del Estado de Guerrero, la cual se encuentra en la comunidad de La Ciénega, Malinaltepec, Guerrero. En donde se evaluaron tratamientos pregerminativos (escarificación, ebullición, ácido giberelico, escarificación más ácido giberelico) en la especie *Delonix regia*, con el objetivo de conocer el efecto de cada uno de ellos en la germinación de dicha especie. Para ello se realizó un experimento con un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y un testigo, con cuatro repeticiones de 100 semillas cada uno.

Los resultados obtenidos mostraron que estadísticamente los tratamientos pregerminativos presentaron diferencias estadísticas significativas, en donde el testigo (T1) presentó 12 % de germinación, el tratamiento de escarificación mecánica (T2) 49 %, ebullición (T3) 17.5 %, ácido giberelico (T4) 14 %, ácido giberelico mas escarificación mecánica (T5) 47 % de germinación, pudiendo constatar que según estos resultados el mejor tratamiento para la germinación de *Delonix regia* es el escarificación mecánica.

INTRODUCCIÓN

La especie *Delonix regia* es uno de los arboles más hermosos y llamativos, conocido también como framboyan ponciana royal, framboyat, árbol del fuego, ponciana real, tabachin, franboyo, entre otros (Fuller, 1974).

El framboyán fue descubierto en la selva húmeda de Madagascar en el año 1924, el cual se encontraba de forma nativa (Anónimo, 1969). Además esta especie tiene múltiples usos, tales como ornamental, por la belleza de sus flores, y como árbol de sombra, a menudo se le ve plantado en parques y en las orillas de los caminos (Arreola, 1995).

Sin embargo, es importante señalar que, para obtener una plantación exitosa de cualquier especie de interés, se debe estudiar el proceso de germinación, ya que es el principio de la producción de la planta. En este sentido Samperio (1994) resalta que la importancia de este proceso en la semilla es vital, pues si no hay germinación no hay planta y sin planta no hay cosecha. Así mismo agrega que el inicio de vida de la planta se ve amenazado por varios factores, como son: falta o exceso de riego, plagas, demasiada insolación o temperaturas altas por estas y otras razones se deben extremar los cuidados para obtener plántulas.

PARTE EXPERIMENTAL

El tipo de investigación que se llevó a cabo fue de tipo experimental, la cual se realizó en el laboratorio de suelos en las instalaciones de la Universidad Intercultural del Estado de Guerrero. Los

materiales utilizados para esta investigación fueron los siguientes; en el caso de la extracción de la semilla se utilizó martillo, cincel y para el establecimiento del experimento se utilizó semillas, papel para germinación, lijas, ácido giberelico, parrilla eléctrica, recipiente para la ebullición del agua, contador de semillas, agitador magnético.

La recolecta de semillas se llevó a cabo en la comunidad de El Pericón, municipio de Tecoaapa, Guerrero, para cortar las vainas se utilizó un gancho cernidor, el cual estuvo compuesto por una vara de carrizo de 6 metros de largo, un alambón circular atado a la punta del carrizo y una red en forma de bolsa cosida alrededor del alambón para el almacenamiento de los frutos y evitar la caída al suelo. Se hizo uso de esta herramienta ya que permite extraer los frutos de la parte baja, media y alta de la copa del árbol y con esto tener una copa homogénea y a vez representativa.

El cuadro 1 presenta la descripción de los tratamientos evaluados en la investigación.

Cuadro.1 Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Nombre	Descripción
T1	Testigo	Semilla que no se le aplicó ningún tratamiento.
T2	Escarificación mecánica	Se procedió a realizar la eliminación de parte de la testa de la semilla de forma manual, utilizando una lija.
T3	Agua caliente	Se sumergieron las semillas en agua hirviendo durante 5 minutos a 80° C.
T4	Ácido giberelico	Se sumergieron en ácido 100 ppm durante 24 horas.
T5	Ácido giberelico, escarificación	Se lijo la semilla, posteriormente se sumergieron en ácido giberelico durante 24 horas.

Aplicación de tratamientos

Esta actividad consistió en tratar a la semilla según el tratamiento pregerminativo, tal como se muestra en las siguientes figuras.



Figura 1. Testigo.



Figura 2. Escarificación.



Figura 3. Agua caliente.



Figura 4. Semillas en ácido giberelico.

Después de aplicar los tratamientos pregerminativos a las semillas de *Delonix regia*, se procedió a sembrar las semillas entre papel, para ello se colocaron 100 semillas por repetición, tal y como lo señala la ISTA.

La siembra entre papel, donde las semillas son colocadas entre hojas de papel, el cual debe quedar enrollado y acomodarse en forma vertical o inclinado en la germinadora, pero nunca horizontal. Es importante tomar en cuenta la humedad y aireación, por ello se tuvo cuidado en que el sustrato tuviera suficiente humedad para suplir las necesidades de agua de la semilla.



Figura 5. Siembra Figura 6. Papel en forma de taco.

Evaluación de la germinación

Se realizaron tres conteos para evaluar la germinación, a los 7, 14 y 21 días, esto con el fin de conocer la velocidad del proceso de germinación. Para ello se contabilizaron el total de las plántulas germinadas.

Análisis de los datos

Los datos obtenidos, se capturaron en una base de datos en el programa Excel, posteriormente se sometieron al análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias (Tukey) en el paquete estadístico SAS versión 9.0 (2000).

RESULTADOS

Primera evaluación (7 días)

El análisis de varianza para la primera evaluación a los 7 días muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos, esto indica que hay diferencias entre los tratamientos evaluados en la germinación de la semilla de Delonix regia (Cuadro 2).

Cuadro 2 Resultados del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	4	6722.800000	1680.7	47.66	.0001
Error	15	529.0	35.26		
Total	19	7251.8			
Coeficiente de variación	28.41423				

La comparación de medias de los tratamientos mediante la prueba de Tukey (Cuadro 3 y figura 7) señala diferencias estadísticas significativas, en donde los tratamientos 5, 2 y 1 son estadísticamente iguales, colocándose en el mismo agrupamiento A, sin embargo, numéricamente el tratamiento 5 tiene un valor superior con 45.5 %. Por su parte los tratamientos 4 y 3 son estadísticamente iguales,

pero numéricamente el tratamiento 4 fue superior presentando 8.5% de germinación, en comparación con el tratamiento 1, el cual solo obtuvo 1%.

Cuadro 3. Resultados de la prueba de Tukey.

Tratamiento	Media (%)	Agrupamiento t
5	45.50	A
2	40.50	A
1	9.0	A
4	8.50	B
3	1.0	B

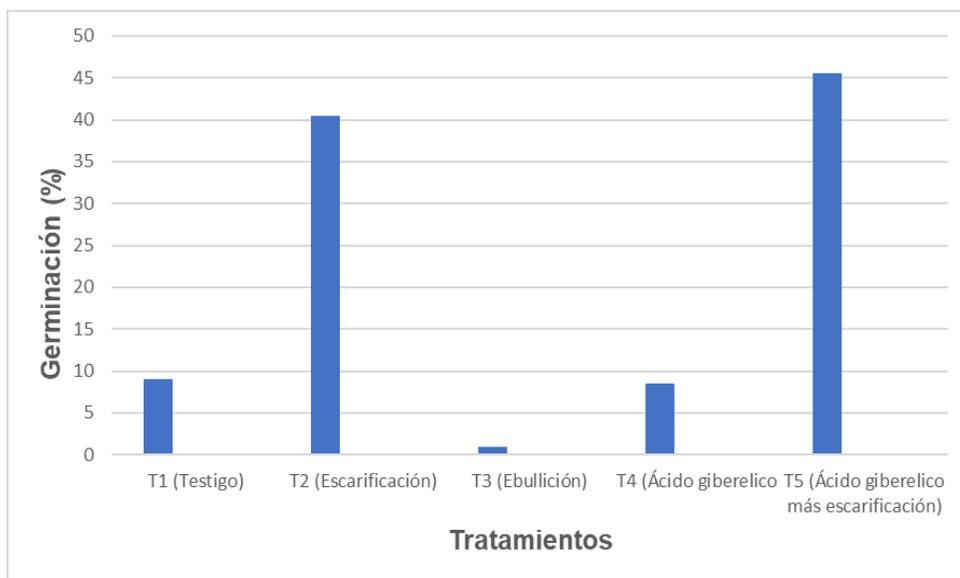


Figura 7. Primera evaluación de la germinación en *Delonix regia*.

Segunda evaluación (14 días)

En el cuadro 4 presenta los resultados del análisis de varianza para la variable germinación de semillas durante la evaluación 2 a los 14 días, en donde muestra que se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados.

Cuadro 4. Resultados del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	4	5986.8	1496.7	24.81	.0001
Error	15	905.0	60.33		
Total	19	6891.8			
Coefficiente de variación	28.87529				

En lo que respecta a la comparación de medias (Tukey), los tratamientos 2, 5 y 3 estadísticamente son iguales, agrupándose en la categoría A, sin embargo, el tratamiento 2 numéricamente presento

el valor más alto con 49% de germinación, seguido del tratamiento 5 con 47%, mientras que el tratamiento 3 solo presentó 15.5%. En lo que respecta a los tratamientos 4 y 1 estadísticamente son iguales con 11.5% de germinación cada uno (Cuadro 5 y figura 8).

Cuadro 5. Resultados de la prueba de Tukey.

Tratamiento	Media (%)	Agrupamiento t
2	49.00	A
5	47.00	A
3	15.50	A
4	11.50	B
1	11.50	B

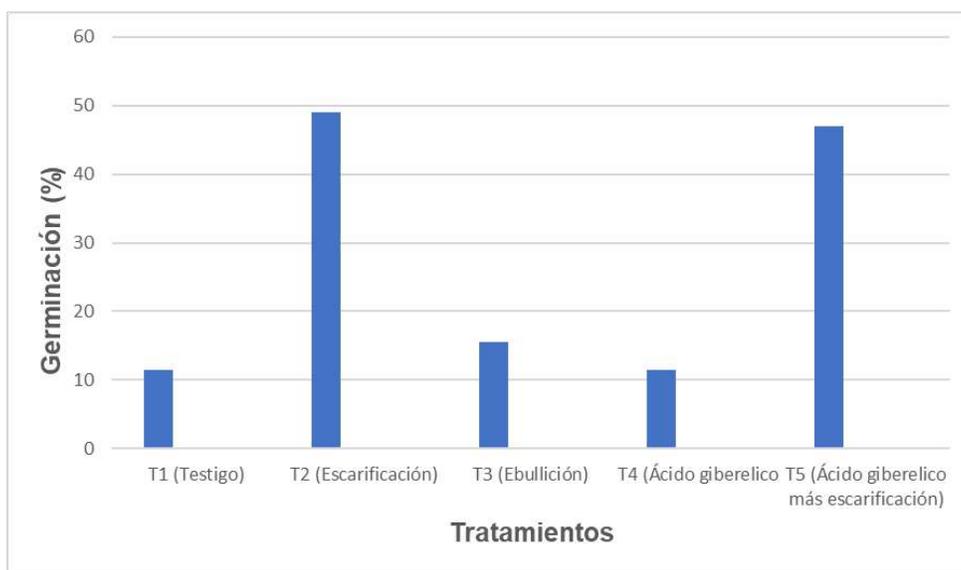


Figura 8. Segunda evaluación de la germinación en *Delonix regia*.

Tercera evaluación (21 días)

El análisis de varianza para la germinación de *Delonix regia* muestra que, si hay diferencias estadísticas significativas, por lo que se puede constatar que los tratamientos evaluados responden de forma diferente en la variable germinación de semilla (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resultados del análisis de varianza.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor de F	Valor de P
Tratamiento	4	5456.8	1364.2	20.57	.0001
Error	15	995.0	66.33		
Total	19	6451.8			
Coefficiente de variación	29.19186				

En la tercera evaluación a los 21 días, la prueba Tukey (comparación de medias) muestra que los tratamientos 2, 5 y 3 se encuentran en el mismo agrupamiento A, obteniendo los valores más alto en cuanto a la germinación se refiere, mientras que los tratamientos 4 y 1 obtuvieron valores de 14% y 12%, respectivamente colocándose en la categoría B (Cuadro 7 y figura 9).

Cuadro 7. Resultados de la prueba de Tukey.

Tratamiento	Media (%)	Agrupamiento t
2	49.00	A
5	47.00	A
3	17.50	A
4	14.00	B
1	12.00	B

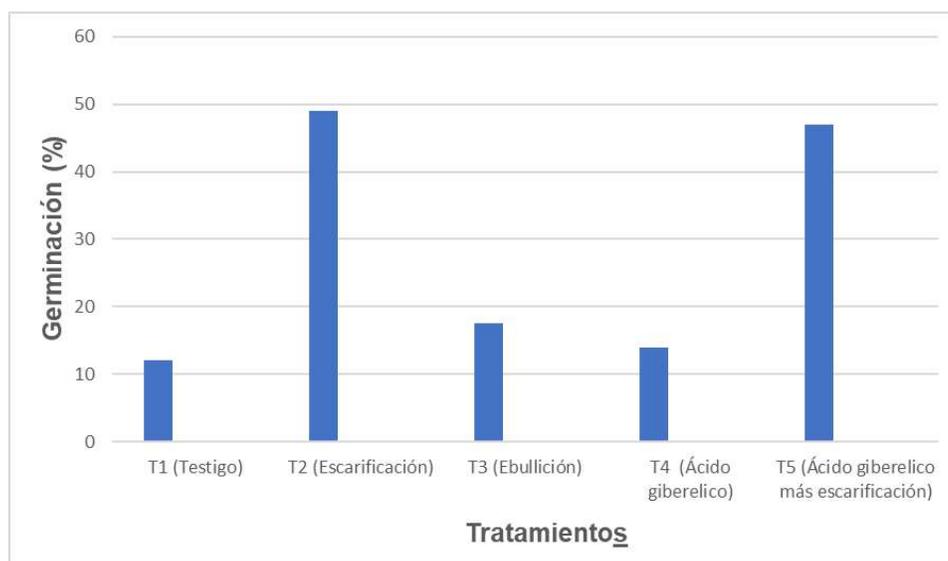


Figura 9. Tercera evaluación de la germinación en *Delonix regia*.

CONCLUSIONES

Una vez terminado el presente trabajo de investigación, se puede decir que si existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos pregerminativos evaluados a los 21 días después de la siembra, en donde el testigo (T1) tuvo 12 % de germinación, escarificación mecánica (T2) 49 %, ebullición (T3) 17.5 %, ácido giberelico (T4) 14 %, ácido giberelico + escarificación mecánica (T5) 47 % de germinación, por lo tanto, se sugiere emplear un tratamiento pregerminativo para acelerar la germinación.

Por tanto, se recomienda utilizar los tratamientos de escarificación mecánica, seguido de ácido giberelico más escarificación mecánica, porque son los métodos que más se sugieren para obtener el mayor número de semillas en un menor tiempo y una germinación más uniforme.

BIBLIOGRAFÍA

- Arreola P., J. A. (1995). Germinación y crecimiento inicial de cinco especies forestales tropicales en vivero. Tesis profesional. Ingeniero Forestal. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma. Edo. de Méx.
- Fuller, J. (1974). *Botanica*. Interamericana Mexico.

EFFECTO BIOESTIMULANTE DE FOSFITO EN RAÍZ EN PLANTAS DE CHAYOTE (*Sechium edule*)

Alejandra Pacheco-Narcizo¹, Fernando Carlos Gómez-Merino^{2*}; Libia Iris Trejo-Téllez³,
Juan Valente Hidalgo-Contreras⁴, María de la Luz Buendía-Valverde⁵

^{1,2,4}Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953.

^{2,3,5}Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: fernandg@colpos.mx

RESUMEN

En este estudio, se evaluó el efecto estimulante de Phi (0, 5, 10, 15, 20 y 25 μM) en el volumen y longitud de raíz de plantas de chayote (*Sechium edule*). Para ello se condujo un experimento en un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en una maceta con una plántula de chayote. Se realizaron cuatro aplicaciones a la raíz y al follaje (a punto de rocío) de las plantas con un intervalo de aplicación de 8 d. La cosecha de las plantas se realizó a los 30 días después de la siembra, y se evaluó el volumen de raíz por desplazamiento de agua con una probeta graduada de 250 mL de capacidad; así también la longitud de raíz, midiendo desde el cuello hasta el final de la raíz con apoyo de cinta métrica. Con los datos obtenidos se comprobó que los datos cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, posteriormente, los datos fueron sometidos a análisis de varianza de una vía y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). En cuanto al volumen de raíz, el tratamiento que tuvo la media más alta fue 20 μM Phi con 15.2 cm^3 , presentando diferencias estadísticas en comparación con el testigo con un volumen de 4.7 cm^3 . Los tratamientos de 5, 10, 15 y 25 μM Phi ocasionaron una disminución en el volumen de raíz y no presentaron diferencias estadísticamente significativas con el testigo. Por otro lado, la mayor longitud de raíz se registró en plantas tratadas con 0 y 5 μM Phi (42.8 y 43.9 cm respectivamente), los tratamientos de 10, 15, 20, 25 μM Phi presentaron 36.3, 35.5, 33.7, 35.24 cm, respectivamente. Estos resultados muestran que el Phi en una concentración alta muestra un efecto positivo ya que mejora el desarrollo de raíces adventicias aumentando el volumen de raíz; con lo cual, la planta tendrá mayor capacidad de exploración en el suelo y con ello mayor posibilidad de acceso a nutrimentos.

INTRODUCCIÓN

En México el cultivo del chayote [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.] es de suma importancia alimentaria, farmacéutica, e industrial. Además, México se ha convertido en el mayor productor y exportador de chayote verde liso en el mundo (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2010; Barrera-Guzmán *et al.*, 2022).

A pesar de lo anterior, en nuestro país algunas plantaciones de chayote se encuentran establecidas en suelos ácidos que presentan baja disponibilidad nutrimental, lo que limita el desarrollo de raíces de la planta y disminuye la superficie de exposición en el suelo, así como capacidad de explorar volúmenes mayores (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2007).

Por otra parte, los bioestimulantes son productos que estimulan procesos metabólicos de las plantas, por lo que están destinados a mejorar una o más de las características siguientes: eficiencia en el uso de nutrimentos, tolerancia al estrés abiótico, calidad de los productos, entre otros (du Jardin, 2015).

El fosfito (Phi) como bioestimulante puede promover el crecimiento de las raíces y el valor nutricional de cultivos hortícolas (Gómez-Merino y Trejo-Téllez *et al.*, 2015). El Phi también puede mejorar de manera especial, el rendimiento de los cultivos bajo condiciones de estreses abiótico (Thao y Yamakawa, 2009; Trejo-Téllez y Gómez-Merino, 2018). Sin embargo, las altas concentraciones de Phi pueden provocar fitotoxicidad en algunos cultivos, incluyendo daño a los tejidos y disminución del rendimiento (Lovatt y Mikkelsen, 2006).

La respuesta final de los cultivos a la aplicación de Phi depende principalmente del abastecimiento de fósforo en forma de fosfato, y se estima que, para tener buenos efectos, la concentración de Phi no debe ser mayor al 30% del fósforo total aplicado a la planta, siendo el restante 70% abastecido como fosfato (Gómez-Merino *et al.*, 2022). Otros factores como las condiciones de manejo agronómico, la forma de suministro, el genotipo y la etapa del cultivo también influyen en el efecto bioestimulante final del Phi en plantas (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2016).

En el contexto anterior, esta investigación evaluó el efecto bioestimulante del fosfito, aplicado a la raíz y al follaje, en el crecimiento (longitud y volumen) de las raíces de plantas de chayote bajo condiciones de invernadero.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Se emplearon plantas de chayote [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.] var. *virens levis*.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos de Phi evaluados fueron: 0, 5, 10, 15, 20 y 25 μM , a partir de H_3PO_3 . Para ello se condujo un experimento en un diseño completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una maceta con una plántula.

Manejo del experimento

Se realizaron cuatro aplicaciones de Phi a la raíz y al follaje (a punto de rocío) de las plantas con un intervalo de aplicación de 8 días.

Variables evaluadas

La cosecha de las plantas se realizó a los 30 días después de la siembra, y se evaluó el volumen de raíz por desplazamiento de agua con una probeta graduada de 250 mL de capacidad; así también la longitud de raíz, midiendo desde el cuello hasta el final de la raíz con apoyo de cinta métrica.

Análisis de datos

Se comprobó que los datos cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Posteriormente, los datos fueron sometidos a análisis de varianza de una vía y las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS

La mayor longitud de raíz se tuvo en plantas tratadas con 0 y 5 μM Phi (42.8 y 43.9 cm respectivamente). Solo la dosis 20 μM Phi fue significativamente menor al testigo y al tratamiento en el que se aplicaron 5 μM Phi (Figura 1).

Por otra parte, con la dosis 20 μM Phi se tuvo el mayor volumen de raíz, presentando diferencias respecto al testigo y al resto de los tratamientos. Las dosis 5, 10, 15 y 25 μM Phi ocasionaron disminución del volumen de raíz y no presentaron diferencias significativas con el testigo (Figura 2).

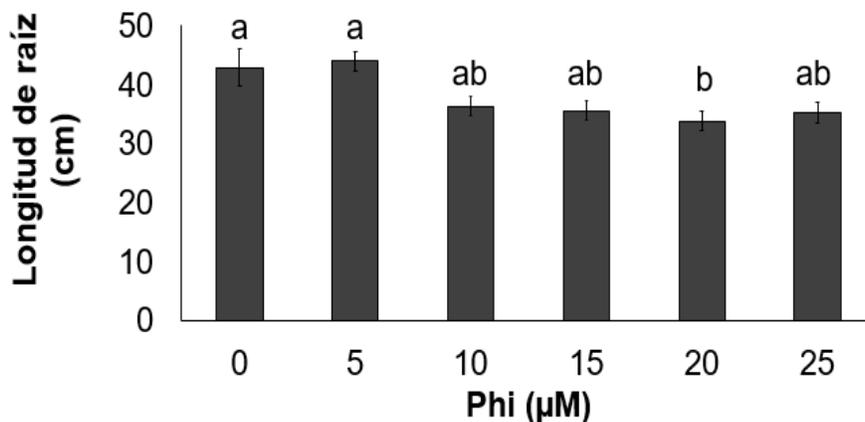


Figura 1. Longitud de raíz de plantas tratadas con diferentes dosis de Phi. Medias \pm EE, letras distintas, son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

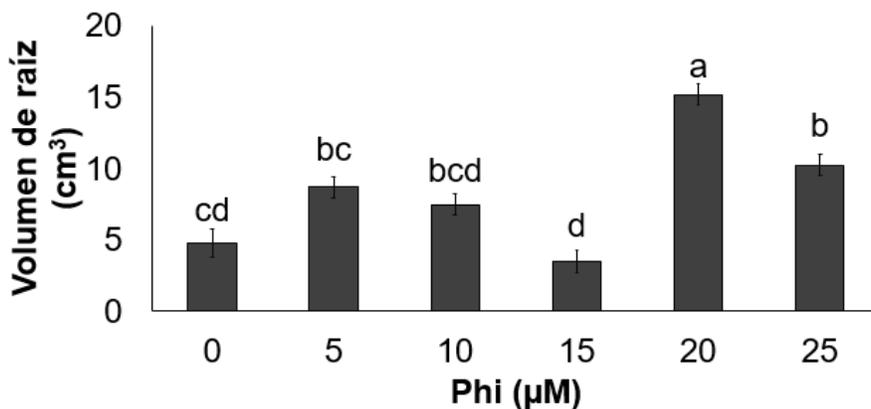


Figura 2. Volumen de raíz de plantas tratadas con diferentes dosis de Phi. Medias \pm EE, letras distintas, son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La aplicación de 5 μM Phi aumenta la longitud de raíz, pero al aplicar 20 μM Phi se incrementa el volumen de raíz al promover el desarrollo de raíces adventicias. Con tal volumen aumentado la planta tendrá mayor capacidad de exploración en el suelo y mayor posibilidad de acceso a nutrimentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. J. Lovatt & R. L. Mikkelsen, "Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do?", *Better Crops*, Vol. 90, 4, 2006, pp. 11–13.
2. F. C. Gómez-Merino & L.I. Trejo-Téllez, "Biostimulant activity of phosphite in horticulture". *Scientia Horticulturae*, Vol. 196, 2015, pp. 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.035>
3. F. C. Gómez-Merino & L.I. Trejo-Téllez, "Conventional and novel uses of phosphite in horticulture: Potentialities and challenges", *Italus Hortus*, Vol. 23, 2, 2016, pp. 1–13.
4. F. C. Gómez-Merino, L. F. Gómez-Trejo, R. Ruvalcaba-Ramírez & L. I. Trejo-Téllez, "Application of phosphite as a biostimulant in agriculture". *In: New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2022), Chapter 7, pp. 135–153, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85581-5.00002-1>
5. J. Cadena-Iñiguez, M. L. Arévalo-Galarza, C. Avendaño-Arrazate, M. Soto-Hernández, L. Ruiz-Posadas, E. Santiago-Osorio & D. Ochoa-Martínez, "Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw.", *Fresh Produce*, Vol. 1, 2007, pp. 41–53.
6. J. Cadena-Iñiguez & M. L. C. Arévalo-Galarza, "Rescatando y Aprovechando los Recursos Fitogenéticos de Mesoamérica", *GiSeM Chayote*, Vol. 1, 2010, pp. 1–10.
7. L. A. Barrera-Guzmán, J. Cadena-Iñiguez, J. P. Legaria-Solano, J. Sahagún-Castellanos & G. Ramírez-Ojeda, "Potential distribution of domesticated *Sechium edule* (Cucurbitaceae) in Mexico", *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 27, 3, 2022, pp. 326–335. <https://doi.org/10.15446/abc.v27n3.93485>
8. H. T. B. Thao & T. Yamakawa, "Phosphite (phosphorous acid): fungicide, fertilizer or biostimulator? *Soil Science and Plant Nutrition*, Vol. 55, 2, 2009, pp. 228–234, <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x>
9. L. I. Trejo-Téllez & F.C. Gómez-Merino, "Phosphite as an inductor of adaptive responses to stress and stimulator of better plant performance", *In: Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*, S. Vats (ed.) (Springer, Singapur, 2018), Chapter 8, pp. 203–238, https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5_8
10. P. du Jardin, "Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation", *Scientia Horticulturae*, Vol. 196, 2015, pp. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>

CONCENTRACIÓN DE Ca, Mg, S, Al y Na EN SEMILLA CACHICHÍN: CON PERSPECTIVA NUTRICIONAL

Alejandro Esli Hernández-Mora¹, José Andrés Herrera-Corredor²; Aleida Selene Hernández-Cázares³, Adriana Contreras-Oliva⁴, Libia I. Trejo-Téllez⁵, Fernando C. Gómez-Merino⁶

^{1-4,6}Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Carretera Córdoba-Veracruz km 348, Manuel León, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C. P. 94953. ^{5,6}Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

*E-mail: fernandg@colpos.mx

RESUMEN

El árbol de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.), endémico de la Sierra de Misantla, Veracruz, México, produce un fruto en forma de nuez que contiene una semilla de sabor amargo. Esta semilla es comercializada y distribuida por productores de la región, de forma cruda y tostada. Es considerada una botana nutritiva por su alto contenido lipídico, en su mayoría ácidos grasos insaturados (Omega Ω -3, Ω -6 y Ω -9). También se han identificado azúcares reductores (glucosa y fructosa) y un elevado contenido de aminoácidos, aunque a la fecha, poco se ha investigado sobre su composición mineral. El objetivo en la presente investigación fue determinar el contenido de macronutrientes Ca, Mg y S de la semilla cruda y bajo un tostado controlado a nivel laboratorio en condiciones controladas (25 min a 134 °C). En tales condiciones también se determinaron las concentraciones de Na y Al. La extracción de los macronutrientes se realizó a partir la molienda de la semilla y se determinaron por digestión húmeda con una mezcla de ácido perclórico y nítrico, las lecturas se realizaron en un equipo de espectroscopia de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES). Las concentraciones de Ca, Mg y S fueron de 0.76 g k⁻¹, 1.28 g k⁻¹ y 1.05 g k⁻¹ en semilla cruda y de 0.82 g kg⁻¹, 1.25 g kg⁻¹ y 0.97 g kg⁻¹ en semilla con tostado controlado, respectivamente. Adicionalmente se identificaron los elementos Na y Al con las siguientes concentraciones: 208.49 mg kg⁻¹ y 1.08 mg kg⁻¹ para semilla cruda, y 223.64 mg kg⁻¹ y 1.41 mg kg⁻¹ para tostado controlado, respectivamente. Dado el buen contenido de minerales, se concluye que la semilla cachichín es un complemento adecuado para la dieta diaria de los consumidores para uso nutritivo y funcional.

INTRODUCCIÓN

Endémico de la sierra de Misantla, Veracruz, el árbol de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.) produce un fruto similar a una nuez, el cual contiene una semilla oleaginosa de sabor amargo (Hernández-Mora *et al.*, 2021). Esta semilla es cultivada y comercializada por productores de la región nombrados comúnmente “cachichineros”, que venden la semilla de forma cruda y tostada. Es considerada una botana nutritiva por su alta concentración lipídico, en su mayoría ácidos grasos de cadena insaturada, así como azúcares y algunos minerales importantes en la alimentación humana (Hernández-Mora *et al.*, 2022a; Hernández-Mora *et al.*, 2022b).

La semilla de chachichín es considerada una botana nutritiva por su alto contenido lipídico, en su mayoría ácidos grasos insaturados (Ω -3, Ω -6 y Ω -9). También se han identificado azúcares reductores (glucosa y fructosa) y un elevado contenido de aminoácidos (Hernández *et al.*, 2013).

Sin embargo, no se cuenta con estudios detallados sobre las concentraciones y contenidos de elementos minerales o macronutrientes esenciales como N, P, K, Ca, Mg y S, ni de elementos no esenciales como Na y Al.

El objetivo en la presente investigación fue determinar el contenido de macronutrientes Ca, Mg y S de la semilla cruda y bajo un tostado controlado a nivel laboratorio en condiciones controladas (25 min a 134 °C). También se determinaron los contenidos de los elementos Na y Al.

PARTE EXPERIMENTAL

Semillas de cachichín

En este estudio se evaluaron semillas de la especie *Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thoms., conocida comúnmente como cachichín. Las semillas fueron compradas en diversos comercios ubicados en el municipio de Misantla, Veracruz, México.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron dos tratamientos en semillas de cachichín. El primero de ello consistió en semillas crudas, en tanto que el segundo, consistió en semillas con un tratamiento de tostado (tratamiento térmico) bajo condiciones controladas de laboratorio (134 °C por 25 min). El tratamiento térmico de tostado controlado se realizó en una cacerola de aluminio y una parrilla de calentamiento (SP131015Q, Thermo-Scientific, Estados Unidos) a 134 °C por 25 min (Hernández-Mora *et al.*, 2017). Cada tratamiento tuvo seis repeticiones, mismas que se manejaron en laboratorio con una distribución completamente al azar.

Variables evaluadas

Las semillas sometidas a los dos tratamientos antes descritas fueron sometidas a un proceso de secadas en condiciones controladas en una estufa de aire forzado (Riossa, HCF-125, México) por 72 h a 72 °C. Una vez secas y a peso constante, las semillas fueron molidas en mortero y tamizadas a malla No. 1, con el fin de obtener una muestra homogénea.

En el material seco se realizó una digestión húmeda con una mezcla de ácido perclórico y nítrico (1:2, v:v), de acuerdo con la metodología descrita por Alcántar y Sandoval (1999). Los extractos obtenidos posterior a la digestión fueron filtrados. En éstos, se determinaron las concentraciones de Ca, Mg, S, Na y Al, empleando un equipo de espectroscopia de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES; Agilent 725-ES, Estados Unidos). Los resultados fueron expresados en mg o g de elemento por kg de semilla (mg kg^{-1} ; o g kg^{-1}) en peso de biomasa seca (PBS).

Análisis de datos

Con los resultados obtenidos se realizaron análisis de varianza y pruebas de comparación de medias por Tukey; en ambos casos, con un nivel de confianza del 95 % ($P \leq 0.05$). Para lo anterior se empleó el software estadístico RStudio versión 1.2.5033.

RESULTADOS

Los resultados de concentración de Ca, Mg, S, Na y Al son mostrados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Concentración de calcio (Ca), magnesio (Mg), azufre (S), sodio (Na) y aluminio (Al) en semilla de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.) cruda y tostada.

Tratamiento	Ca	Mg	S	Na	Al
	(g kg ⁻¹ PBS)			(mg kg ⁻¹ PBS)	
Semilla cruda	0.76±0.06a	1.28±0.03a	1.05±0.02a	208.5±82.09a	1.1±0.02a
Semilla tostada	0.82±0.14a	1.25±0.07a	0.97±0.08a	223.6±36.31a	1.4±0.27a

Medias ± EE con letra distinta en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $P \leq 0.05$). PBS: Peso de biomasa seca.

El consumo de Ca por el ser humano proporciona una regulación de los trastornos hipertensivos, prevención de osteoporosis y adenomas colorrectales, así como complemento de la formación de huesos y dientes (Cormick y Belizán, 2019).

La ingesta de Mg previene la presión arterial elevada, que causa enfermedades cardiovasculares. Pacientes con un alto consumo de Mg muestran beneficios en la prevención de diabetes mellitus tipo dos, ayudando al organismo a metabolizar carbohidratos y reducir el riesgo de resistencia a la insulina (National Institutes of Health, 2019).

El azufre es un mineral necesario para la formación del colágeno, una proteína que forma parte de la piel, los huesos, los tendones y los ligamentos (Hewlings y Kalman, 2019).

Con los valores registrados, es posible afirmar que, el consumo de al menos 100 g de semilla de cachichín bajo cualquiera de los dos tratamientos propuestos en esta investigación, aporta en promedio 80 mg de Ca, 124 mg de Mg y 97 mg de S, valores comparables con el aporte nutricional reportado para almendra (*Prunus amygdalus*) y nuez de Castilla (*Juglans regia*) (Fálder-Rivero, 2004; USDA, 2019).

Durante el consumo de la semilla, el S aportado será a través de aminoácidos sulfurados que participarán en la síntesis de proteínas e incluso como parte de la enzima NADH deshidrogenasa, la cual contiene en su estructura un centro Fe-S, necesarios para la transferencia de átomos de hidrógeno a la coenzima Q (ubiquinona) en la cadena de transporte de electrones llevada a cabo como parte de un proceso de obtención de energía en la mitocondria (Harvey y Ferrier, 2011).

Adicionalmente, el consumo de al menos 100 g de semilla de cachichín cruda o con tostado controlado, aportan promedio aproximadamente 21 mg de Na y 0.15 mg de Al; esto representa aproximadamente 76% más de Na y un 62% menos de Al con respecto a lo reportado para almendra (*Prunus amygdalus*) (Barreca *et al.*, 2020).

Respecto a Na, el consumo en adultos es de 2,300 mg al día (FDA, 2022); por lo tanto, la semilla de cachichín sería un complemento para el consumo diario recomendado de Na. El papel fisiológico del Na se basa en regular el volumen extracelular, mantener el equilibrio ácido-base, la comunicación neuronal, así como función renal y contracción de miocitos en tejido muscular (Liem *et al.*, 2011).

El consumo límite máximo de Al dictado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, Food and Drugs Administration) es de 0.2 mg diario, debido a que mayor a esta ingesta diaria, tendría probabilidad de sufrir una intoxicación (ATSDR, 2008). Se han asociado efectos tóxicos sobre la ingesta de Al, como efectos neurotóxicos y Alzheimer; sin embargo, para llegar a padecimientos crónicos, se necesita una ingesta/absorción de Al excesiva (Willhite *et al.*, 2014), por lo que el consumo de Al a través de la semilla de cachichín no representa un efecto tóxico.

CONCLUSIONES

Las concentraciones de Ca, Mg, S, Al y Na en semillas de cachichín no son afectadas por un tratamiento térmico controlado (tostado a 134 °C por 25 min). Asimismo, los valores encontrados de estos elementos, hacen que esta semilla puede ser considerada como un complemento adecuado para la dieta diaria de los consumidores para uso nutritivo y funcional.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. E. Hernández-Mora, G. A. Guzmán-Báez, A. S. Hernández-Cázares, A. Contreras-Oliva, L. I. Trejo-Téllez & F. C. Gómez-Merino, "Contenido de azúcares reductores y totales en semilla de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.)" *In: Trabajos Científicos de México Tomo II*, (Temacilli Editorial, México, 2022a), pp. 272-275.
2. A. E. Hernández-Mora, L. I. Trejo-Téllez, A. S. Hernández-Cázares, A. Contreras-Oliva & F. C. Gómez-Merino, "Cachichín seed (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.): Source of nutrients and bioactive compounds", *Revista Chapingo Serie Agricultura Tropical*, Vol. 1, 2, 2021, pp. 57-69. <https://doi.org/10.5154/r.rchsat.2021.02.05>
3. A. E. Hernández-Mora, M. Castillo-Morales, E. A. García-Montalvo & E. Flores-Andrade, "Prueba de toxicidad aguda-oral del aceite de la semilla *Oecopetalum mexicanum* en ratones BALB/c", *Journal CIM*, Vol. 5, 2, 2017, pp. 1043-1050.
4. A. E. Hernández-Mora, S. M. Ramírez-Olvera, A. S. Hernández-Cázares, A. Contreras-Oliva, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino. "Contenido de macronutrientes (N, P y K) en semilla de cachichín (*Oecopetalum mexicanum* Greenm. & C.H. Thomps.), con una perspectiva nutricional funcional", *In: Trabajos Científicos de México Tomo II*, (Temacilli Editorial, México, 2022b), pp. 340-343.
5. Á. Fálder-Rivero, "Enciclopedia de los Alimentos", *Distribución y Consumo*, Vol. 77, 2004, pp. 117-133.
6. ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology and Environmental Medicine. (September, 2008). Public Health Statement Aluminum CAS # 7429-90-5.
7. B. Hernández, G. Luna, O. García, M. R. Mendoza, E. Azuara, C. I. Beristain & M. Jiménez, "Extraction and characterization of *Oecopetalum mexicanum* seed oil", *Industrial Crops and Products*, Vol. 43, 2013, pp. 355-359. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.022>
8. C. C. Willhite, N. A. Karyakina, R. A. Yokel, N. Yenugadhati, T. M. Wisniewski, I. M. Arnold, F. Momoli & D. Krewski, "Systematic review of potential health risks posed by

- pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts”, *Critical Reviews in Toxicology*, Vol. 44, 4, 2014, pp. 1-80, <https://doi.org/10.3109/10408444.2014.934439>
9. D. Barreca, S. M. Nabavi, A. Sureda, M. Rasekhian, R. Raciti, A. S. Silva, G. Annunziata, A. Arnone, G. C. Tenore, I. Süntar & G. Mandalari, “Almonds (*Prunus dulcis* Mill. DA Webb): A source of nutrients and health-promoting compounds”, *Nutrients*, Vol. 12, 672, 2020, pp. 1-22, <https://doi.org/10.3390/nu12030672>.
 10. D. G. Liem, F. Miremadi & R. S. Keast, “Reducing sodium in foods: the effect on flavor”, *Nutrients*, Vol. 3, 6, 2011, pp. 694-711. <https://doi.org/10.3390/nu3060694>
 11. FDA, Food and Drugs Administration, Hechos Sobre Alimentos (Febrero 25, 2022) El sodio en su dieta. <https://www.fda.gov/food/nutrition-education-resources-materials/el-sodio-en-su-dieta>.
 12. G. Alcántar-González & M. Sandoval-Villa, “*Manual de análisis químico de tejido vegetal*”. Publicación especial No. 10, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Chapingo, Estado de México, 1999.
 13. G. Cormick & J. M. Belizán, “Calcium intake and health”, *Nutrients*, Vol. 11, 7, 1606, 2019, pp. 1-16, <https://doi.org/10.3390/nu11071606>.
 14. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements (December 3, 2019) Magnesium Consumer Fact Sheet. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Magnesium-Consumer/>
 15. R. A. Harvey & D. R. Ferrier, “*Bioquímica*” 5a. Edición. Palacios-Martínez, R. (Trad.). Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA., 2011.
 16. USDA, U.S. Department of Agriculture - FoodData Central. (April 1, 2019). Nuts, almonds. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170567/nutrients>.
 17. S. Hewlings & D. Kalman, “Sulfur in Human Health”, *EC Nutrition*, Vol. 14, 9, 2019, pp. 785-791.

METHYLOBACTERIUM (METHYLORUBRUM) SP COMO BACTERIA PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR) CON CAPACIDAD DE BIORREMEDIACIÓN

Renata María Corona Reyes¹, Dalia Molina Romero², María del Rocío Bustillos Cristales³

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

renata.corona@alumno.buap.mx

RESUMEN

El género *Methylobacterium* (*Methylorubrum*) está compuesto por bacterias gramnegativas de naturaleza no patógena, metilotróficas facultativas, capaces de metabolizar compuestos de un solo carbono como el metanol (C1) y compuestos de múltiples carbonos, por lo que se ha evidenciado que pueden adaptarse a suelos contaminados y con deficiencia de nutrientes ⁽¹⁾. Se ha demostrado que las bacterias metilotróficas muestran atributos funcionales como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR); en el balance del ciclo de carbono, tolerancia al estrés abiótico, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, disminución de la toxicidad a metales, la síntesis de fitohormonas ⁽²⁾. Por las características mencionadas anteriormente las bacterias metilotróficas son de gran interés para la industria agrícola y para la biorremediación ^(3,4). En este trabajo se buscó determinar si las cepas *Methylobacterium* UAPS01-23 y *Methylobacterium extorquens* JCM2802, aisladas de la rizosfera de *Neobuxbaumia macrocephala* presente en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán por Bustillos-Cristales et al. (2017) presentaban propiedades PGPR como la solubilización de fosfatos, producción de indoles y sideróforos; además, determinar su tolerancia a metales pesados como el cadmio. Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos como la solubilización de fosfatos determinada mediante el medio de cultivo NBRIP ⁽⁵⁾ fue positiva en ambas cepas. La determinación de indoles mediante la técnica de Salkowski ⁽⁶⁾ fue positiva tanto en la cepa *M. UAPS01-23* como en *M. extorquens* JCM2802. En cambio, la producción de sideróforos determinada mediante el ensayo O-CAS ⁽⁷⁾ en ambas cepas fue negativa. Se observó que *M. extorquens* AM1 fue capaz de tolerar el metal pesado cadmio (0.2mM), por otro lado, *M. UAPS01-23* careció de resistencia a cadmio. Concluimos que *Methylobacterium* UAPS01- 23 y *Methylobacterium extorquens* JCM2802 presentan propiedades bioquímicas que las muestra como un modelo potencial para la promoción del crecimiento vegetal. Además, en el caso particular de *M. extorquens* JCM2802 la perfila como una posible candidata para estudiar su capacidad como bacteria degradadora de metales pesados.

INTRODUCCIÓN

El género *Methylobacterium* está compuesto de bacterias gramnegativas, estrictamente aerobias, bacilos, con colonias generalmente rosadas debido a la síntesis de carotenoides que las hacen tolerantes a condiciones de luz y radiaciones extremas ⁽⁸⁾. Se caracterizan por ser metilotróficas facultativas, capaces de metabolizar compuestos de un solo carbono; metanol, metilamina u otros compuestos de carbono C1 o compuestos de múltiples carbonos; acetato, etanol y etilamina (C2), piruvato (C3), succinato (C4), como fuentes de carbono y energía, por lo que son capaces de adaptarse a suelos contaminados y con deficiencia de nutrientes ^(1,9). El género se distribuye en una amplia variedad de entornos naturales y artificiales, que incluyen suelo, aire, polvo, agua dulce y marina, sedimentos y suministros de agua ⁽¹⁰⁾. Se ha reportado que *Methylobacterium* establece asociaciones simbióticas con plantas hospederas ⁽¹¹⁾. Además, forma parte del microbioma de la filósfera y rizosfera de plantas ^(12,13). Se ha evidenciado que las bacterias metilotróficas muestran

atributos funcionales como Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPR); en el balance del ciclo de carbono, tolerancia al estrés abiótico, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, disminución de la toxicidad a metales, la síntesis de fitohormonas ⁽²⁾. Por las características mencionadas anteriormente las bacterias con este metabolismo son de gran interés para la industria agrícola y para la biorremediación ^(3,4).

Se aislaron de la rizosfera de *Neobuxbaumia macrocephala* presente en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán las cepas *Methylobacterium* UAPS01-23 y *Methylobacterium extorquens* JCM2802, que son metilotróficas facultativas ⁽²⁾. En este trabajo se describió si ambas cepas *Methylobacterium* presentan propiedades PGPR, como la solubilización de fosfatos, producción de indoles y sideróforos; además, se evaluó su tolerancia a metales pesados como el cadmio.

TEORÍA

Los géneros bacterianos generalmente empleados como PGPR incluyen a *Rhizobium* sp., *Pseudomonas* sp. y *Bacillus* sp. (14). En cuanto a los géneros comúnmente utilizados para biorremediación de metales pesados se encuentran *Aspergillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Aerococcus* sp. y *Rhodospseudomonas* sp. (15). Sin embargo, en los últimos años se han estudiado diferentes géneros que incluyen a *Methylobacterium* (*Methylorubrum*).

La cepa *Methylobacterium* sp. 2A aislada de plantas *Solanum tuberosum* actúa como una rizobacteria promotora de crecimiento vegetal bajo condiciones adversas. Se reportó que *Methylobacterium* sp. 2A produce ácido indolacético (IAA), solubiliza el fosfato mineral y es capaz de crecer en un medio libre de nitrógeno. En el genoma de *Methylobacterium* sp. 2A se encontraron genes atribuibles a los rasgos promotores de crecimiento vegetal (PGPR). Se identificaron los genes *trpA-G* involucrados en la biosíntesis de L-triptófano, los genes *NtrBC* y *NtrXY* involucrados en la fijación de nitrógeno y los genes que expresan las enzimas de las dos vías de biosíntesis de IAA: la vía IAM y IAN (3).

La cepa *Methylobacterium radiotolerans* MAMP 4754 aislada del árbol *Combretum erythrophyllum* es resistente al zinc, cobre y níquel, con una concentración de tolerancia máxima (MTC) de 15 mM, 4 mM y 12 mM respectivamente. Además, la secuenciación de su genoma completo reveló que esta cepa codifica proteínas relacionadas con la resistencia a metales pesados. Por otro lado, la cromatografía de gases mostró varios compuestos promotores del crecimiento vegetal, incluidos alcoholes, ésteres de ftalato, alquenos, cetonas, derivados de sulfuro, fenoles y tiazoles (4).

PARTE EXPERIMENTAL

Propiedades PGPR

1. Solubilización de Fosfatos

Para determinar si las cepas solubilizaban fosfatos inorgánicos se utilizó el medio sólido de cultivo NBRIP ⁽⁵⁾. El experimento se realizó tres veces por duplicado. Las cepas *P. putida* KT2440 (control positivo), *M. extorquens* JCM2802 y *M. UAPS01-23* se cultivaron en tubos con 5 ml de medio líquido King B y se incubaron durante 24 horas, en el caso de *P. putida* KT2440, y 48 horas para las cepas *Methylobacterium* en una incubadora orbital a 150 rpm y 30°C. Se tomaron 500 µl de cada muestra y se centrifugaron a 13,000 rpm durante 5 minutos, se retiró el sobrenadante y los pellets se resuspendieron con 500 µl de MgSO₄ al 10 mM. Posteriormente se inoculó 20 microlitros de la suspensión celular del cultivo en placas de medio sólido NBRIP (1-L): MgCl₂ 6H₂O 5g, MgSO₄ H₂O

0.25g, KCL 0.2g, NH₄SO₄ 0.1g, Ca₃(PO₄)₂ 6g, Glucosa 9g, Azul de Bromotimol 6ml y pH 7. Finalmente se midió la formación del halo a los 7 días con el programa IMAGEJ.

2. Determinación de indoles

La determinación de indoles se realizó mediante la técnica de Salkowski ⁽⁶⁾. El experimento se realizó tres veces por duplicado. Las cepas *M. UAPS01-23* y *M. extorquens* JCM2802 se inocularon en medio líquido King B en tubos con 5 ml, utilizando como control positivo a *P. putida* KT2440 y como control negativo medio sin inocular, se incubaron en agitación a 150 rpm y 30°C durante 72 horas. Transcurridas las 72 hrs se midió la densidad óptica (DO) a 540 nm y se inoculó en matraces con 25 ml de medio King B con una DO final de 0.01 A, se aplicó la fórmula:

$$1. V1C1=V2C2$$

de la siguiente manera:

$$V1= (25 \text{ ml}) (0.01 \text{ A}) / \text{Densidad óptica}$$

La determinación de indoles se realizó a las 72 y 96 horas. Se tomó una muestra de 1 ml del medio de cultivo en tubos estériles eppendorf y se centrifugó a 13000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente se tomó 500 microlitros de sobrenadante y se colocó en tubos de vidrio para agregar 500 microlitros de reactivo PC e incubar durante 30 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente se midió la absorbancia de la reacción a una longitud de onda de 540 nm, se utilizó como blanco 500 microlitros de H₂O y 500 microlitros de reactivo de PC. Se recuperó los pallets de las muestras para realizar la cuantificación de proteínas.

La formulación del medio líquido King B para un litro es la siguiente: Peptona de caseína 20g, K₂HPO₄ 1.15g, MgSO₄ 1.5g, Glicerol 1.5% triptófano 0.1g.

La formulación del reactivo PC para 100 ml: FeCl₃ 0.5 M 2ml y HClO₄ (37%) 98 ml.

3. Producción de sideróforos

Para evaluar la producción de sideróforos se llevó a cabo con el ensayo O-CAS modificado ⁽⁷⁾. El experimento se realizó tres veces por duplicado. *P. putida* KT2440 (control positivo), *M. extroquens* y *M. UAPS01-23* se cultivaron en tubos con 5 ml de medio líquido King B con H₂O pisa y se incubaron en agitación por 150 rpm a 30°C durante 72 hrs. Para normalizar el inoculo en el medio sólido King B se utilizó la fórmula:

$$1. V1C1=V2C2$$

de la siguiente manera:

$$V1= (20 \text{ ul}) (0.5 \text{ A}) / \text{Densidad óptica}$$

Las cepas se sembraron en medio King B sólido y se incubaron a 30°C durante 7 días. Para evidenciar la producción de sideróforos se realizó el protocolo de doble capa con el colorante cromo azurol, la formulación de la capa para superposición contiene (1 litro): Cromo azurol S (CAS) 60,5 mg, bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HDTMA) 72,9 mg, Piperazina-1,4-bis (ácido 2-etanosulfónico) (PIPES) 30,24 g, y FeCl₃ 1 mM · 6H₂O en HCl 10 mM 10 mL y agarosa (0,9 %, p/v) como agente gelificante.

Resistencia a metales pesados

Las cepas *M. UAPS01-23*, *M. extorquens* JCM2802 y *P. putida* KT2440 se inocularon en tubos de medio líquido GP con 5 ml, se incubaron con agitación a 150 rpm y 30°C durante 72 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se midió la densidad óptica (DO) a 540 nm y se inoculó en tubos con 25 ml de medio GP con una concentración de 0.2 mM de cadmio; otro tratamiento fue con

los tubos con 25 ml de medio GP sin cadmio, ambos con una DO final de 0.005 A, se aplicó la fórmula:

$$1. V1C1=V2C2$$

de la siguiente manera:

$$V1= (25 \text{ ml}) (0.01 \text{ A}) / \text{Densidad óptica}$$

Finalmente se cuantificó a la población a las 72, 120 y 144 hrs mediante la técnica Drop Plate (16). Los experimentos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la evaluación de las capacidades bioquímicas tipo PGPR de las cepas *Methylobactrium* UAPS01-23, *Methylobacterium extorques* JCM2802 y *Pseudomonas putida* KT2440 fueron las siguientes:

La cepa *P. putida* KT2440 fue la más eficiente en cuanto a la solubilización de fosfatos, sin embargo, las cepas *Methylobacterium* presentaron una solubilización parcial del fosfato inorgánico con acidificación del medio del cultivo (tabla 1).

Tabla 1.

Cepas	Diámetro (promedio)
<i>P. putida</i> KT2440	2.5 cm
<i>M. UAPS01-23</i>	1.6 cm
<i>M. extorques</i> JCM2802	1.2 cm

La tabla muestra el promedio del diámetro del halo de solubilización de fosfatos.

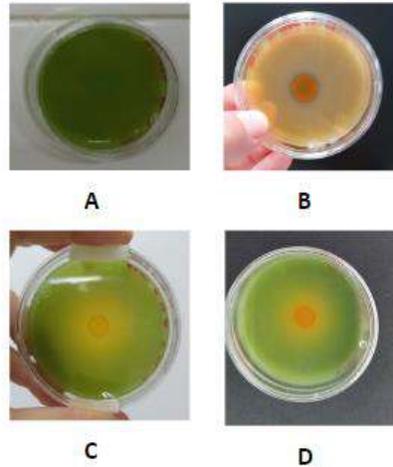


Figura 1 capacidad de solubilización de fosfatos. El control negativo corresponde a A, *P. putida* KT2440 corresponde a B, *M. UAPS01-23* corresponde a C y *M. extorquens* JCM2802 corresponde a D. Se observa que tanto *M. UAPS01-23* como *M. extorquens* JMC2802 presentaron el halo de solubilización.

En la producción de compuestos indólicos a las 72 horas de crecimiento bacteriano se observó que la cepa *P. putida* KT2440 presentó un promedio de 12.427 mg AIA/ ug proteína, *M. UAPS01-23* 12.656 mg AIA/ ug proteína y *M. extorquens* JCM2802 0.758 mg AIA/ ug proteína (Gráfico 1). La producción de AIA a las 96 horas de crecimiento la cepa con mayor producción fue *P. putida* KT2440 con un promedio de 16.1614 mg AIA/ ug proteína, *M. UAPS01-23* 11.672 mg AIA/ ug proteína y *M. extorquens* JMC2802 2.850 mg AIA/ ug proteína. Con esta determinación se observó que la cepa *M. UAPS01-23* presentó mayor producción de indoles con una diferencia estadísticamente significativa en comparación a *M. extorquens* JCM2802.

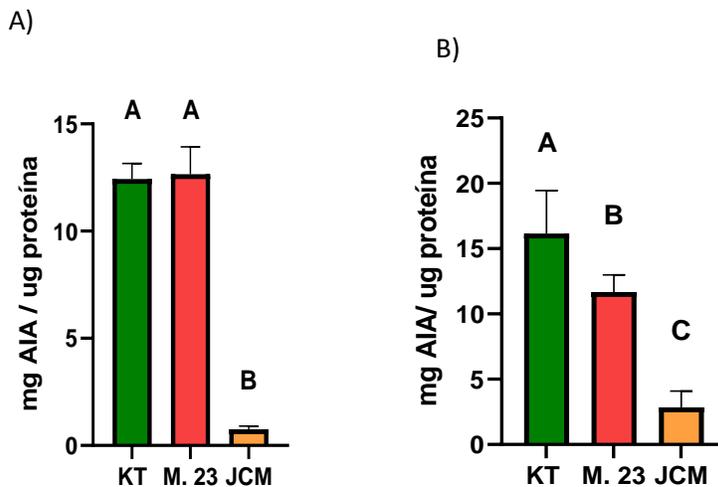


Gráfico 1 producción de indoles. Se muestra la producción de ácido indolacético (AIA) mg AIA/ ug proteína a las 72 horas de crecimiento, KT corresponde a *P. putida* KT2440; M. 23 corresponde a la cepa *M. UAPS01-23* y JCM corresponde a *M. extorquens* JCM2802. A) corresponde a la determinación de indoles a las 72 horas y B) corresponde a la producción de AIA a las 96 horas de crecimiento de las tres cepas. Para el análisis estadístico se aplicó el análisis t- *Student*.

Para la evaluación de la producción de sideróforos se observó que *P. putida* KT2440 fue capaz de producir sideróforos de tipo hidroxamato, sin embargo, *M. UAPS01-23* y *M. extorquens* JCM2802 carecen de la producción sideróforos con el ensayo O-CAS modificado bajo las condiciones en las que se realizó el experimento (Figura 2).

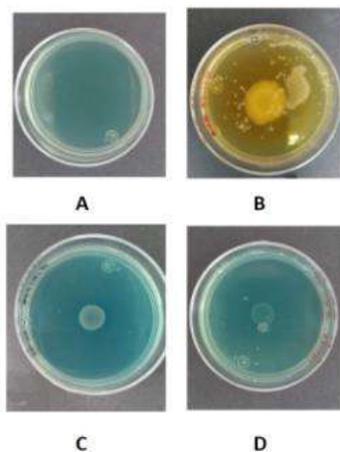
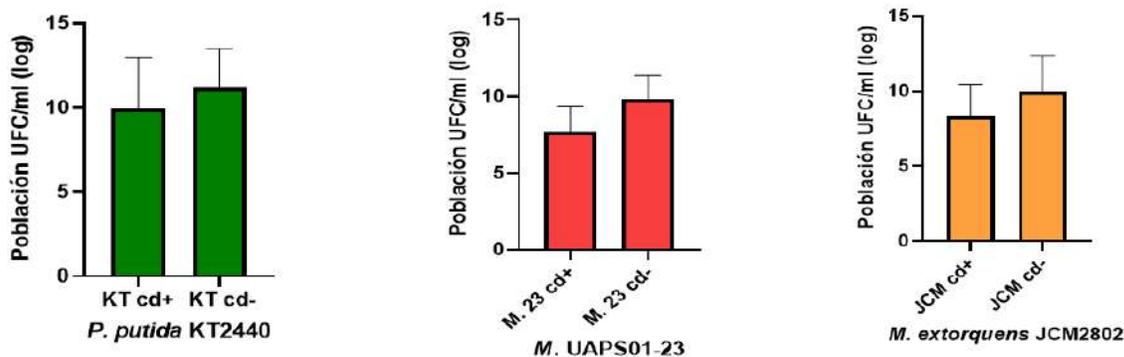


Figura 2 producción de sideróforos. El control negativo corresponde al inciso A, *P. putida* KT2440 corresponde a B, *M. UAPS01-23* se representa con C y *M. extorquens* JCM2802 corresponde a D.

Para la evaluación de la supervivencia bacteriana en presencia de una concentración de 0.2mM de cadmio, se registró que la cuantificación de la población de las tres cepas: *P. putida* KT2440, *M. UAPS01-23* y *M. extorquens* JMC2808 toleraron la presencia de cadmio, así mismo la población bacteriana con estrés por el metal pesado fue muy similar y sin diferencias significativas entre las poblaciones en condición adversas en comparación con la población en condiciones óptimas (Gráfico 3).



Gráfica 3 resistencia a la presencia de Cadmio. KT representa a *P. putida* KT2440, M. 23 corresponde a *M. UAPS01-23* y JCM significa *M. extorquens* JCM2808. cd+ corresponde a la presencia de cadmio a una concentración de 0.2 mM; cd- ejemplifica las condiciones óptimas de crecimiento. Los datos fueron analizados con una prueba t-Student.

CONCLUSIONES

Concluimos que *Methylobacterium* UAPS01- 23 y *Methylobacterium extorquens* JCM2802 presentan propiedades bioquímicas que las muestra como un modelo potencial para la promoción del crecimiento vegetal. Además, tanto *M. UAPS01-23* como *M. extorquens* JCM2802 toleran la presencia del metal pesado cadmio, lo que las perfila como posibles candidatas para estudiar su capacidad como bacteria degradadora de metales pesados.

BIBLIOGRAFÍA

- Giri, D. D., Singh, S. K., Giri, A., Dwivedi, H., & Kumar, A. (2021). *Bioremediation potential of methylo trophic bacteria*. In *Microbe Mediated Remediation of Environmental Contaminants* (pp. 199-207). Woodhead Publishing.
- del Rocío Bustillos-Cristales, M., Corona-Gutierrez, I., Castañeda-Lucio, M., Águila-Zempoaltécatl, C., Seynos-García, E., Hernández-Lucas, I., ... & Fuentes-Ramírez, L. E. (2017). Culturable facultative methylo trophic bacteria from the cactus *Neobuxbaumia macrocephala* possess the locus *soxF* and consume methanol in the presence of Ce^{3+} and Ca^{2+} . *Microbes and environments*, ME17070.
- Grossi, C., Fantino, E., Serral, F., Zawoznik, M. S., Fernandez Do Porto, D. A., & Ulloa, R. M. (2020). *Methylobacterium* sp. 2A Is a Plant Growth-Promoting Rhizobacteria That Has the Potential to Improve Potato Crop Yield Under Adverse Conditions. *Frontiers in plant science*, 11, 71.
- Photolo, M. M., Sitole, L., Mavumengwana, V., & Tlou, M. G. (2021). Genomic and Physiological Investigation of Heavy Metal Resistance from Plant Endophytic *Methylobacterium radiotolerans* MAMP 4754, Isolated from *Combretum erythrophyllum*. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 997.
- C.Shekhar Nautiyal (1999). *An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms.*, 170(1), 265–270.
- Glickmann, E., & Dessaux, Y. (1995). A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 61(2), 793–796.

7. Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L. S., & Fernández, F. J. (2007). O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *Journal of microbiological methods*, 70(1), 127-131.
8. Dela Rosa, C. J. O., Lee, A. C., & Rivera, W. L. (2021). Pink Pigmented Facultative Methylophilic Bacteria Isolated from Fermented Philippine Shrimp Paste. *Tropical life sciences research*, 32(2), 147–161.
9. Kumar, M., Tomar, R. S., Lade, H., & Paul, D. (2016). Methylophilic bacteria in sustainable agriculture. *World journal of microbiology & biotechnology*, 32(7), 120.
10. Van Aken, B., Peres, C. M., Doty, S. L., Yoon, J. M., & Schnoor, J. L. (2004). *Methylobacterium populi* sp. nov., a novel aerobic, pink-pigmented, facultatively methylophilic, methane-utilizing bacterium isolated from poplar trees (*Populus deltoides* x *nigra* DN34). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54(Pt 4), 1191–1196
11. Dourado, M. N., Camargo Neves, A. A., Santos, D. S., & Araújo, W. L. (2015). Biotechnological and agronomic potential of endophytic pink-pigmented methylophilic *Methylobacterium* spp. *BioMed research international*, 2015, 909016.
12. Delmotte, N., Knief, C., Chaffron, S., Innerebner, G., Roschitzki, B., Schlapbach, R., von Mering, C., & Vorholt, J. A. (2009). Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(38), 16428–16433.
13. Pandiyan, Kuppusamy (2021). Microbiomes and Plant Health || Phyllosphere microbiome: modern prospectus and application. , (), 345–366.
14. Patel, J. S., Kumar, G., Bajpai, R., Teli, B., Rashid, M., & Sarma, B. K. (2021). PGPR formulations and application in the management of pulse crop health. In *Biofertilizers* (pp. 239-251). Woodhead Publishing.
15. Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z., & Wassie, M. (2017). The role of microorganisms in bioremediation-A review. *Open Journal of Environmental Biology*, 2(1), 038-046.
16. Herigstad, B., Hamilton, M., & Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of microbiological methods*, 44(2), 121–129.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS CRUDOS DE *Lentinula edodes* (SHIITAKE)

Paola Rebeca Garzón Vidal¹, Leticia Aguilar Doroteo¹, Gustavo Valencia del Toro¹, Angélica Cruz Solorio¹, María Eugenia Garín Aguilar²

¹Laboratorio de Cultivos Celulares de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, UPIBI, Instituto Politécnico Nacional, Barrio La Laguna SN, México D. F. ²Laboratorio de Farmacobiología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios # 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, CP 54090. Estado de México, México

letyad05@hotmail.com

RESUMEN

Lentinula edodes (shiitake), debido a sus características nutritivas y medicinales, excelente sabor y aroma es aceptado mundialmente¹ este hongo es originario de Asia, en países como Japón y China concentran su mayor producción y es comercializado de diferentes formas para su consumo (Mata et al. 2020, Silva et al. 2010). En México el cultivo de shiitake se inició en 1970 y desde ahí aumento su producción y consumo a lo largo del país, actualmente su producción asciende a más de las 5 mil toneladas, lo que equivale a casi el 60% de la producción total de Latinoamérica (Martínez-Carrera et al. 2007). Debido a la gran demanda de nuevos fármacos, entre ellos los agentes antimicrobianos, ha obligado a incrementar la investigación en la búsqueda de alternativas para actuales padecimientos, el uso de fuentes naturales como los hongos comestibles nos ofrece la posibilidad de obtener compuestos biológicamente activos. En este sentido, se han evidenciado las actividades biológicas de compuestos bioactivos a partir del hongo comestible *Lentinula edodes*, lo que ha permitido posicionar a este género como un alimento funcional y motivar investigaciones al desarrollo de productos con aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue realizar el análisis micoquímico de extractos crudos de *L. edodes* y evaluar su actividad antibacteriana. En este estudio fue posible determinar cumarinas, glicósidos cardiacos, quinonas, alcaloides, carbohidratos y aminoácidos en los extractos crudos en cepas L5 y L9 de *Lentinula* mediante un análisis preliminar micoquímico, por otro lado, a través del antibiograma con la técnica de Kirby Bauer de extractos acuosos de *L. edodes* se mostró actividad antibacteriana sobre bacterias Gram negativas alcanzando halos de inhibición hasta 13.3 mm. Finalmente, los extractos acuosos y hexánicos de las cepas L5 y L9 presentaron concentraciones mínimas inhibitorias de 7 mg/mL hasta 12 mg/mL en bacterias Gram negativas y Gram positivas. La presente investigación evidencio que las bacterias Gram negativas fueron más susceptibles que la bacteria Gram positiva al estar en contacto con los extractos crudos de *L. edodes*. El extracto acuoso L9-01 y los extractos hexánico L9-01 y L5-01 poseen un efecto antibacteriano contra la mayoría de las bacterias Gram negativas estudiadas. Lo anterior, permite sugerir que las cepas de *L. edodes* presentan un potencial en la elaboración de un bioproducto con aplicaciones industriales en el sector alimentario o farmacéutico.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del shiitake presenta ventajas económicas en su producción ya que este se cultiva a partir de residuos agrícolas y forestales, así como su precio en el mercado global, manejado en China, Japón y Taiwan. La explotación tanto industrial como comercial se ha extendido a continentes como Europa y América, siendo la especie más cultivada con aproximadamente un 22% del total en la producción de hongos a nivel mundial, desplazando al conocido champiñón blanco (*Agaricus*

bisporus), que por años ocupó el primer lugar de producción a nivel mundial. (Romero, 2015). En México el cultivo de shiitake se inició en 1970 y desde ahí aumentó su producción y consumo a lo largo del país, su producción actualmente asciende a más de las 5 mil toneladas, lo que equivale a casi el 60% de la producción total de Latinoamérica, por otro lado por la posición geográfica, clima y abundancia de residuos agrícolas en México se han adaptado y modificado las técnicas tradicionales para reducir el ciclo del cultivo y bajar los costos de producción al utilizar como substratos materiales antes no considerados, tales como la viruta y el aserrín de diferentes árboles, como el encino, pino, palo mulato, y varios residuos agrícolas como el maíz, caña de azúcar, avena. (Gaitan, 2014)

Actualmente, el shiitake es ampliamente conocido en los mercados internacionales por ser un excelente alimento funcional, ya que además de sus funciones nutricionales básicas, es capaz de proporcionar beneficios a la salud ayudando a prevenir, tratar o aliviar enfermedades, si se consume regularmente en la dieta. El shiitake es considerado un alimento funcional debido a sus propiedades nutricionales y medicinales, las cuales se han dado a conocer a través de extractos o concentrados utilizados como suplementos alimenticios a nivel global, estos tienen actividad biológica fortaleciendo el sistema inmune debido a compuestos con bioacción como inmunoactivos, por otro lado ayuda a reducir la hipertensión, prevenir y tratar el cáncer, diabetes, SIDA, enfermedades cardiovasculares y parasitarias (Martínez, 2004)

Con los avances dentro de la química en productos naturales y al enfoque sobre el estudio de los metabolitos fúngicos, en la producción industrial de estos compuestos se aplican procesos biotecnológicos para así lograr optimizar su producción, estos metabolitos poseen relevantes actividades fisiológicas por lo que son de relevancia en la industria farmacéutica (Arce, 2020). En el 2018, Rulova reportó la actividad antibacteriana de cuatro extractos obtenidos con solventes de diferente polaridad (cloroformo, etanol, acetato de etilo, hidroalcohólico 50:50), obtenidos por maceración a partir del estípite *L. edodes* (L-SSC). Estos extractos presentaron actividad antibacteriana para tres bacterias diferentes, tales como *Listeria spp*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*. De los cuatro solventes evaluados, el etanol mostró un mayor efecto de inhibición sobre las tres cepas bacterianas que se trabajaron, se registró el mayor halo de inhibición (12.7 mm) en la cepa de *Listeria spp*, en contraste al menor halo de inhibición (2.7 mm) se obtuvo con el extracto cloroformico, las diferencias se atribuyen a la polaridad de los solventes utilizados. Berrus y Segarra en 2019, determinan la composición química de *L. edodes* por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y un análisis micoquímico, e indicaron la existencia de metabolitos secundarios como flavonoides, fenoles y taninos en extractos acuosos, mientras que, en extractos alcohólicos, la presencia de alcaloides, cumarinas, aceites y grasas, triterpenos y/o esteroides. Por otro lado, se obtuvieron extractos metanólicos a partir de cuerpos fructíferos de *L. edodes* y se evidenció la presencia de nueve metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, terpenoides, ácido ascórbico, taninos, antiocianinas y glicósidos cardiacos (Islam et al. 2015).

La gran demanda de nuevos fármacos, entre ellos los agentes antimicrobianos, ha obligado a incrementar la investigación en la búsqueda de alternativas para actuales padecimientos. Por otro lado, el uso de fuentes naturales como los hongos comestibles nos ofrece la posibilidad de obtener compuestos biológicamente activos, además de que la biotecnología ha permitido que su producción en residuos lignocelulósicos sea durante todo el año sin la necesidad de esperar la temporada de lluvia para recolectarlos. En este sentido, se han evidenciado las actividades biológicas de compuestos bioactivos a partir del hongo comestible *Lentinula edodes*, comercialmente conocido como Shiitake, que ha permitido posicionar a este género como un alimento funcional y motivar a

futuras investigaciones al desarrollo de productos con aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue realizar el análisis micoquímico de extractos crudos de *L. edodes* y evaluar su actividad antibacteriana.

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico: Los hongos de *Lentinula edodes* fueron adquiridos en los supermercados de la ciudad de México posteriormente en el laboratorio se desinfectaron y por cultivo axénico se recuperó el micelio en medio de cultivo agar extracto de malta, fueron registrados como cepa L5-01 Y L9-01.

Obtención de extractos: El hongo fue cortado en pequeños fragmentos para permitir un rápido secado, a partir del material seco, se pulverizó con la ayuda de una licuadora. Posteriormente se obtuvieron los extractos con diferente polaridad (hexánico y acuoso) mediante el método de extracción con Soxhlet, el extracto se concentró con la ayuda de un rotavapor. Los extractos fueron registrados como L5-01 hexánico, L9-01 hexánico, L5-01 acuoso, L9-01 acuoso y se almacenaron hasta su uso para las pruebas biológicas.

Las cepas bacterianas utilizadas en los bioensayos fueron: *Escherichia coli* (aislado clínico), *Salmonella typhi* (INDRE 2874) *Staphylococcus aureus* (donada del Laboratorio de Microbiología de la UPIBI), *Klebsiella rhinoscleromatis* (ATCC 27155) *Shigella dysenteriae* (INDRE B2188). Estas cepas se mantuvieron a 4 °C en agar nutritivo.

Antibiograma: La actividad antibacteriana de los extractos de *Lentinula* se evaluaron empleando la técnica de sensibilidad bacteriana (Kirby-Bauer). Las cepas fueron incubadas en caldo nutritivo durante 24 h a 37 °C, estos cultivos fueron ajustados a una densidad de 10^8 UFC /mL según la escala de McFarland. Posteriormente, se sembraron con la ayuda de un hisopo estéril cada cultivo en placas de Petri con agar Mueller Hinton (MH) distribuyéndolo uniformemente. Los discos estériles de papel filtro (6mm de diámetro) fueron impregnados con 20 μ L de cada uno de los extractos (8 y 12 mg/disco), posteriormente y en condiciones asépticas se depositaron sobre la superficie del agar. Se usaron como control negativo los solventes (agua y hexano) y se adicionó (20 μ L) la misma cantidad a los discos y como control positivo solución de cloranfenicol (15 μ g/disco). Finalmente, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Las pruebas se realizaron por triplicado para cada cepa. La interpretación de los halos se realizaron 24 h posteriores al experimento, se registraron los diámetros de los halos de inhibición con la finalidad de determinar presencia o ausencia de actividad inhibitoria.

Concentración Mínima Inhibitoria (MIC): La cuantificación de concentraciones mínimas inhibitorias se llevó a cabo para los extractos de *Lentinula*, cloranfenicol y controles negativos (hexano y agua) empleando las cinco cepas en estudio. Para la determinación de la CIM se llevó a cabo el método de microdilución en placa de 96 pocillos, se realizaron diluciones seriadas para obtener las concentraciones a evaluar (se prepararon ocho concentraciones para una primera prueba de 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0 mg/mL y para una segunda prueba de 0.075, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 5.0, 7.0, 8.0, 10.0, 12.0 mg/mL de extracto crudo acuoso y hexánico de las cepas L5-01 y L9-01. Se usó una suspensión bacteriana (10^6 UFC/ml según la escala de McFarland). Se colocaron controles negativos y positivos. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Pasado este tiempo de incubación se adicionaron a cada pozo violeta de tetrazolium al 0.08% y se llevaron nuevamente incubación a 37 °C por 30 minutos. La ausencia de color (formazán) indicó la no reducción del

compuesto por las bacterias, lo cual sugiere la muerte de éstas. La lectura se realizó de manera visual. En todos los casos, la CIM se determinó como la mínima concentración

Para el perfil micoquímico de los extractos se realizó con pruebas cualitativas para identificación de azúcares reductores, glicósidos cianogénicos, alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas, saponinas, taninos, quinonas y sesquiterpenlactonas. Las pruebas se hicieron de acuerdo con los criterios descritos en el Manual de prácticas de productos naturales de la UPIBI-IPN.

RESULTADOS

Antibiograma por técnica Kirby-Bauer

Los extractos hexánicos L5-01 y L9-01 (concentración de 8 mg) inhibieron el crecimiento de la bacteria Gram positiva *S. aureus* mostrando halos de inhibición de 7.0 y 6.7 mm, respectivamente. Mientras que el extracto acuoso de L9-01 (concentración de 8 mg) mostró los mayores halos de inhibición de 12.43 mm para *E. coli* y 13.3 mm para *S. dysenteriae*. De la misma manera, el extracto de L9-01 (concentración de 12 mg) inhibió el crecimiento de *E. coli* con un halo de inhibición de 13 mm y fue menos activo para *K. rhinoscleromatis* (7 mm). Se ha evidenciado el efecto antibacteriano de extractos acuosos de dos variedades de *L. edodes* sobre bacterias *K. pneumonia*, *S. aureus* sensible a metilina, *S. aureus* resistente a metilina, *E. coli* CETC 434 y *S. aureus* (CETC 976). El intervalo de halos de inhibición fue de 7 a 11 mm para *L. edodes* var. Donko y de 7 a 16 mm para *L. edodes* var. Koshin, donde el mayor halo de inhibición (16 mm) se presentó para *S. aureus* resistente a metilina (García et al. 2021). En otro estudio, Hearst et al (2009) indicaron un intervalo de halos de inhibición de un extracto acuoso de *L. edodes* de 8 a 92 mm frente a bacterias Gram positivas y negativas, donde los halos de inhibición para *E. coli* y *S. aureus* no superan los 12 mm. Finalmente, la bacteria Gram negativa *Salmonella typhi* fue resistente a los extractos crudos trabajados, debido a que dichas bacterias disponen de varios mecanismos de resistencia (Tafur, 2008) lo que podría favorecer su resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, una estrategia para favorecer el efecto antibacteriano es aumentar la concentración del extracto y/o evaluar con otro tipo de extracto y/o solvente.

Concentración Mínima Inhibitoria

Con respecto a los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI), se encontró que todas las cepas bacterianas trabajadas necesitan de una CMI superior a 12 mg/mL al estar en contacto con los extractos acuosos, mientras que los resultados menores se presentaron en los extractos hexánicos de L5-01 (7 mg/mL) frente a las bacterias Gram negativas *E. coli*, *S. dysenteriae* y *K. rhinoscleromatis*. Mismos resultados se presentaron para *E. coli* y *S. dysenteriae* al estar en contacto con los extractos hexánicos de L9-01, en cambio para las cepas *K. rhinoscleromatis* y *S. thypi* presentaron una concentración mínima inhibitoria de 8 y 10 mg/mL, respectivamente.

Se han reportado concentraciones mínimas inhibitorias para *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Acinetobacter baumannii* de 5.9, 6.01, 5.1 y 5.9 mg/mL, respectivamente al estar en contacto con el extracto etanólico de *L. edodes* a una concentración de 0.4 mg/mL (Erdogan 2022). Por otro lado, Mossebo et al. (2020) obtuvieron un extracto crudo (hexano: cloroformo, 1:1) de *L. squarrosulus* y evaluaron su efecto antibacteriano. Estos autores indicaron concentraciones

inhibitorias en un intervalo de 6.25 a 12.5 mg/mL en bacterias Gram positivas y negativas, las menores concentraciones inhibitorias se presentaron con *B. subtilis* y *Enterobacter cloacae*. Por su parte Escudero (2015) reportó CMI en bacterias patógenas como *S. aureus*, *E. coli* y *S. typhi* de 2.04, 1.3 y 0.78 mg /mL respectivamente al trabajar con extractos hidroalcohólicos obtenidos de *L. edodes* (CP-7) obtenidos por una maceración en frío. La presente investigación evidencio que las bacterias Gram negativas fueron más susceptibles que la bacteria Gram positiva al estar en contacto con los extractos crudos de *L. edodes*, esto puede explicarse con la entrada del extracto a través de la membrana celular en las bacterias y por la estructura morfológica entre las bacterias Gram negativas y positivas, estas últimas tienen una capa de péptidoglicano por lo que la entrada del material externo puede acceder fácilmente, en cambio las bacterias Gram negativas presentan una triple capa de péptidoglicano lo cual no facilita la entrada del material externo (Vidhya et al. 2020). Sin embargo, los extractos crudos *L. edodes* presentaron el efecto antibacteriano en bacterias Gram negativas a pesar de esta última condición. Por otra parte, las diferencias en el efecto bacteriano (antibiograma y las concentraciones mínimas inhibitorias) se pueden explicar en términos de las concentraciones de los metabolitos presentes en los extractos (Oncho et al. 2021), la cepa bacteriana utilizada y su edad de cultivo, el estadio del hongo (Gutef et al. 2019) y el tipo de solvente utilizado (De Zoysa et al. 2019) debido a que se puede obtener un extracto que contenga la mayor parte de compuestos activos al utilizar solventes polares con una constante dieléctrica alta, en cambio al utilizar un solvente selectivo con constante dieléctrica menor, los extractos presentan una determinada característica con constituyentes químicos exclusivos (Escudero, 2015).

Perfil micoquímico

Se logró evidenciar que en los extractos hexánicos y acuosos de *L. edodes* presentaron una variedad de metabolitos secundarios; identificándose cumarinas, glicósidos cardiacos, quinonas, alcaloides, carbohidratos y aminoácidos. Mientras que los glicósidos cianogénicos, azúcares reductores, saponinas, taninos y sesquiterpenlactonas no se encontraron en los dos extractos crudos mediante las pruebas realizadas. En la Figura 1 y 2 se muestran las pruebas positivas para quinonas y cumarinas.

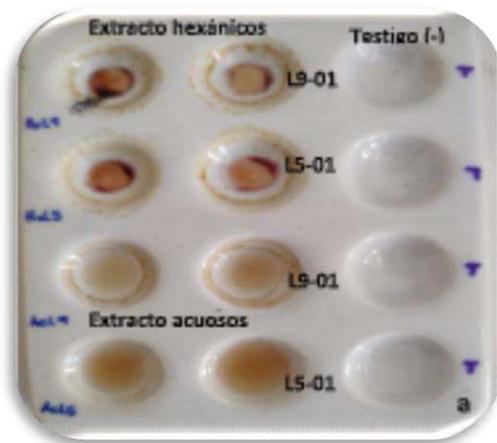


Figura 1. Prueba para la identificación de quinonas en los extractos crudos de *L. edodes*

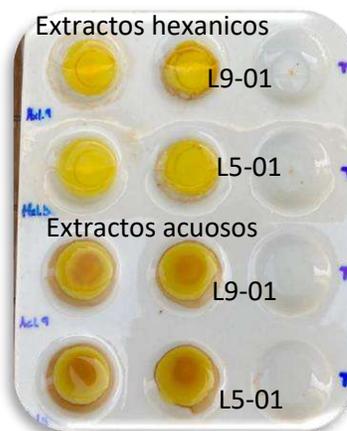


Figura 2. Prueba para la identificación de cumarinas en los extractos crudos de *L. edodes*

Resultados similares se ha reportado por Berrus (2019), quien trabajó con extractos acuosos de *L. edodes* e indicó la presencia de compuestos como alcaloides, azúcares reductores, fenoles, taninos, saponinas y flavonoides. En otra investigación, el extracto etanólico de *L. squarrosulus* presenta metabolitos como terpenos, flavonoides, glicósidos cardíacos, saponinas, taninos, carbohidratos y proteínas (Adeoye et al. 2021), lo cual coincide con los resultados obtenidos en este proyecto.

CONCLUSIONES

Se pudo observar que el extracto acuoso L9-01 y los extractos hexánicos L9-01 y L5-01 poseen un efecto antibacteriano contra la mayoría de las bacterias Gram negativas estudiadas. Asimismo, el análisis micoquímico reveló la presencia de alcaloides, quinonas, cumarinas, glicósidos cardíacos, carbohidratos y proteínas y se evidenció el contenido de carbohidratos y proteínas en los extractos de *Lentinula edodes*.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Adeoye, S. Jonathan, R. Cooposamy, "Molecular characterization, gas chromatography mass spectrometry analysis, phytochemical screening and insecticidal activities of ethanol extract of *Lentinus squarrosulus* against *Aedes aegypti* (Linnaeus)", *Mol. Biol. Rep.*, 48, 2021, pp. 41-55.
2. L. F. Arce-Torres, I. Gómez-Díaz, M. Monge-Artavia, J. Prado-Cordero, "Metabolitos secundarios con actividad medicinal extraídos de hongos provenientes de Centroamérica", *Tecnol. Marcha.*, 33(3), 2020, pp. 80-89.
3. H. Berrus, J. Segarra, "Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar (*Lentinula edodes*)", Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2019
4. M. De Zoysa, H. Rathnayake, R. Hewawasam, "Determination of In Vitro Antimicrobial Activity of Five Sri Lankan Medicinal Plants against Selected Human Pathogenic Bacteria", *Int. J. Microbiol.* 2019.
5. E. Erdoğan, "Antibacterial activity and antibacterial mechanism of ethanol extracts of *Lentinula edodes* (Shiitake) and *Agaricus bisporus* (button mushroom)", *Int. J. of Environ. Health Res.*, 32 (8), 2022, pp. 1828-1841.
6. Escudero. A. "Análisis de las propiedades antioxidantes y antibacterianas del hongo encino (*Lentinula boryana*) y desarrollo de una estrategia de aprovechamiento", Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias agrícolas, Puebla, México. 2015.
7. R. Gaitán-Hernández, G. M. Norberto Cortés, "Improvement of yield of the edible and medicinal mushroom *Lentinula edodes* on wheat straw by use of supplemented spawn". *Braz. J. Microbiol.*, 45, 2014, pp. 467-474.
8. J. García, A. Afonso, C. Fernandes, "Comparative antioxidant and antimicrobial properties of *Lentinula edodes* Donko and Koshin varieties against priority multidrug-resistant pathogens", *S. Afr. J. Chem. Eng.*, 35, 2021, pp.98-106.
9. A. H. Gutef, A. A. Al-Attaqchi, A. T. Tawfeeq, H. B. Saheb, "Evaluation of antibacterial potential of fruiting body extracts of *Pleurotus ostreatus* in vitro and in vivo study". *Drug Invent. Today.*, 14(6), 2020.
10. R. Hearst, D. Nelson, G. McCollum, "An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms", *Complement. Ther. Clin. Pract.*, 15, 2009.
11. M.R. Islam, M. Omar, M. R. Mia. "Phytochemicals. K. *Ganoderma lucidum* and *Lentinula edodes* accessible in Bangladesh". *Am. J. Biol. Life Sci.*, 3(2), 2015, pp.31-35.

12. G. Mata, R. Gaitán-Hernández, D. Salmenes, "El cultivo de shiitake: tecnología e innovación en la producción de un alimento y de medicina ancestral". Instituto de Ecología. 2020.
13. D. Martínez, M. Sobal, P. Morales. "Los hongos comestibles: propiedades nutricionales, medicinales, y su contribución a la alimentación mexicana el shiitake", Colegio de Postgraduados, Puebla, México. 2004.
14. D. Martínez-Carrera, P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla, W. Martínez, "México ante la globalización en el siglo XXI, el sistema de producción consumo de los hongos comestibles. El cultivo de setas *Pleurotus* spp. en México", eds. J.E. Sánchez-Vázquez, D. Martínez-Carrera, G. Mata, H. Leal-Lara, ECOSUR: Tapachula, pp. 209–224, 2007.
15. D. C. Mossebo, B. P. Metsebing, R. Oba, F. T. Tsigaing, L. Ryvarden, T. Y. Fonkui, D. T. Ndinteh, "Comparative evaluation of antifungal and antibacterial activities of crude extracts of *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus tuber-regium* and *Lentinus squarrosulus* (Basidiomycota, Pleurotaceae, Lentinaceae) from Cameroon", *Europ. J. Biol. Biotechnol.*, 1(5,) 2020 pp.
16. D. A. Oncho., M. C. Ejigu. O. E. Urgessa, "Phytochemical constituent and antimicrobial properties of guava extracts of east Hararghe of Oromia, Ethiopia", *Clin. Phytoscience*, 7(1), 2021, pp. 1-10.
17. O. Romero, M. Martínez, M. Damian. "Producción del hongo Shiitake (*Lentinula edodes* Pegler) en bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales". *Revi. Mexicana Cienc. Agríc.*, 6(6), 2015, pp.1229-1238.
18. M. Ruilova, Z. Niño-Ruiz, J. Sanbria, D. Montero, S. Salazar, F. Bayas, R. Sandoval, "Antimicrobial activity of *Lentinula edodes* mushroom extracts against pathogenic bacteria". *Ital. J. Food Sci.*, 179-189, 2021, pp.
19. S. R. Silva, F. F. Consuelo, A. J. Cubilos, C. M. Diaz, "Manual para la producción de hongos comestibles (SHIITAKE) En: Utilización de desechos de podas del arbolado urbano como sustrato para la producción de hongos comestibles (Shiitake)". La Pintana, Chile. 2010.
20. J. D.Tafur, J. A. Torres, M. V. Villegas, "Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas", *Infection*, 12(3), 2008, pp. 227-232.
21. E. Vidhya, S. Vijayakumar, S. Rajalakshmi, S. Kalaiselvi, P. Pandiyan, "Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Ocimum americanum* L extracts against pathogenic microorganisms", *Acta Ecol. Sin.*, 40(3), 2021, pp. 214-220.

BIOACCESIBILIDAD Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE INFUSIÓN DE HOJAS DE *FICUS CARICA* DURANTE LA DIGESTIÓN *IN VITRO*

Viridiana Esquivel-Méndez, Orlando Arellano-Castillo, Martha Paola Rascón-Díaz, Elvia Cruz-Huerta*

Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91190, Xalapa-Enríquez, Veracruz, México.

*elvacruz@uv.mx

RESUMEN

Las hojas de higuera (*Ficus carica* L.) se consideran una fuente importante de compuestos fenólicos que se asocian con una amplia gama de efectos benéficos para la salud humana. Entre sus componentes destaca el contenido de ácidos fenólicos y flavonoides. Estas hojas se usan para preparar infusiones/bebidas acuosas a las que se le atribuyen múltiples propiedades como expectorante, antiinflamatoria, anticancerígena e hipoglucemiante; sin embargo, existe escasa evidencia sobre el efecto de la digestión gastrointestinal en sus compuestos bioactivos. En este estudio, se evaluó la bioaccesibilidad y las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos totales de la infusión de hojas de higuera (IHH) durante la digestión *in vitro*. La infusión se preparó vertiendo 75 mL de agua a 80 °C sobre 2 g de hojas secas durante 5 minutos. La digestión gastrointestinal *in vitro* se realizó siguiendo el protocolo armonizado de Infogest. El contenido fenólico total se determinó según el método de Folin-Ciocalteu y se calculó su bioaccesibilidad. También, se evaluó la actividad antioxidante durante la digestión gastrointestinal *in vitro* mediante los métodos ABTS y DPPH. La IHH presentó un alto contenido de compuestos fenólicos exhibiendo valores de 17.81 ± 1.87 mg EAG g⁻¹ bs. Después de la digestión gástrica e intestinal, el contenido fenólico fue de 14.18 ± 0.46 y 13.51 ± 0.04 mg EAG g⁻¹ bs, respectivamente. La bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en el tracto gastrointestinal simulado fue de 76.5%. La mayor actividad antioxidante se observó en los digeridos intestinales por el método ABTS ($IC_{50} = 1190 \pm 47.84$ µg/mL) y la IHH mostró mayor actividad antioxidante por el método DPPH ($IC_{50} = 148.85 \pm 31.18$ µg/mL) seguido de la digestión gástrica e intestinal ($IC_{50} = 187.60 \pm 7.32$ y 193.15 ± 0.21 µg/mL respectivamente). Se concluye que esta bebida aporta cantidades importantes de compuestos fenólicos y antioxidantes que son relativamente estables durante la digestión simulada. Por lo tanto, las hojas de *Ficus carica* consumidas en infusión podrían ser una alternativa potencial para prevenir y/o tratar trastornos relacionados con el estrés oxidativo.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el consumo de té e infusiones de hierbas o frutas, diversificando la mezcla de ingredientes, sabores y posibles beneficios para la salud. Esta tendencia ha contribuido significativamente a un mercado global valorado actualmente en 9.500 millones de dólares (1). Las infusiones herbales son una rica fuente de compuestos bioactivos como alcaloides, carotenoides, flavonoides, cumarinas, poliacetilenos y terpenos. Numerosos estudios sugieren que consumir entre 1 y 3 tazas de estas infusiones al día puede generar beneficios para la salud (2,3).

Las hojas de *Ficus carica* se consideran una fuente importante de compuestos fenólicos, incluidos ácidos fenólicos y flavonoides, que se asocian con una amplia gama de efectos benéficos para la salud humana. Estas hojas se usan para preparar infusiones/bebidas acuosas a las que se les atribuyen múltiples propiedades, como expectorante, antiinflamatoria, anticancerígena,

hipoglucemiante, entre otras (3). La bioactividad de los compuestos fenólicos está estrechamente relacionada con su bioaccesibilidad y biodisponibilidad, las cuales pueden evaluarse utilizando modelos de digestión *in vitro* que simulan los procesos fisicoquímicos que ocurren durante la digestión gastrointestinal (4). Este estudio tuvo como objetivo evaluar la bioaccesibilidad y las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos totales en la infusión de hojas de higuera (IHH) utilizando un modelo de digestión *in vitro*.

TEORÍA

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y las defensas antioxidantes en el organismo. Este desequilibrio puede provocar daños biológicos y está implicado en el desarrollo de diversas enfermedades, como el cáncer, la diabetes, la hipertensión, los accidentes cerebrovasculares, los infartos agudos de miocardio, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la enfermedad de Alzheimer, entre otras (5,6).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que desempeñan funciones cruciales en la protección de las plantas, ya que son responsables de la pigmentación, la astringencia y la protección contra la radiación ultravioleta, parásitos e insectos (7). Además, se consideran compuestos antioxidantes debido a su capacidad para inhibir las especies reactivas de oxígeno, donando electrones o átomos de hidrógeno, lo cual está determinado por su estructura química, en particular por el número y posición de los hidroxilos y la naturaleza de los anillos aromáticos (8).

Las hojas de *Ficus carica* contienen una gran variedad de compuestos fenólicos, entre los que destacan los ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides, cumarinas, furanocumarinas, compuestos volátiles, triterpenoides, entre otros. Estos compuestos se han asociado con diversas actividades biológicas, como antioxidantes, anticancerígenas, antidiabéticas, cardioprotectoras, antivirales y antiinflamatorias (3). Sin embargo, la actividad biológica de estos metabolitos está influenciada por factores como su bioaccesibilidad y biodisponibilidad (9). La bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos se define como la cantidad de metabolitos liberados de una matriz alimentaria en el tracto intestinal y que está disponible para su absorción. Esta bioaccesibilidad puede verse afectada por la clase de compuestos fenólicos, su tamaño molecular, su patrón de glicosilación y las condiciones del tracto gastrointestinal durante la digestión (10).

PARTE EXPERIMENTAL

Materia vegetal

Las hojas de *Ficus carica* fueron recolectadas en el municipio de Tatatila, Veracruz, ubicado en las coordenadas geográficas 19° 41' 36" latitud norte y 97° 06' 43" longitud oeste y una altitud de 2059 m s. n. m. La región presenta un clima templado-húmedo y temperatura promedio de 20 °C (11).

Preparación de la muestra

Las hojas de *Ficus carica* se seleccionaron con coloración y tamaño similar sin daño mecánico aparente. Se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio (200 ppm, pH 6) de acuerdo con el método de Niemira (12) posteriormente fueron liofilizadas (Labconco FreeZone Plus Mod. 711211030, Kansas, EE. UU.) y almacenadas a -80 °C.

La preparación de la infusión se realizó siguiendo la metodología propuesta por Ortega-Vidal (13), con algunas modificaciones. Para ello, se vertieron 75 mL de agua a una temperatura de 80 °C sobre 2 g de hojas secas molidas durante 5 minutos. Finalmente, la infusión se filtró utilizando papel filtro Whatman No. 1.

Digestión gastrointestinal *in vitro*

La infusión de hojas de higuera (IHH) fue digerida de acuerdo con el protocolo de digestión gastrointestinal *in vitro* de INFOGEST (14) que consta de la fase oral, gástrica e intestinal. En la fase oral, la IHH se diluyó (1:1; p/v) con fluido salival simulado (pH 7), α -amilasa salival (75 U/mL) y se incubó a 37 °C en un agitador orbital a 150 rpm durante 2 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo la fase gástrica, donde el digerido oral se diluyó (1:1; v/v) con fluido gástrico simulado (pH 3), se ajustó el pH a 3 con HCl 5 M y se agregó pepsina de mucosa gástrica porcina (2 000 U/mL), se incubó a 37 °C durante 120 minutos a 150 rpm. En la fase intestinal, se mezcló la fase gástrica (1:1; v/v) con fluido intestinal simulado (pH 7), pancreatina (100 U/mL) y extracto biliar bovino (10 mM). El pH se ajustó a 7 con NaOH 1 M y se incubó a 37 °C durante 120 minutos a 150 rpm. La digestión se detuvo con el inhibidor de proteasas Pefabloc® SC (5 mM). Se obtuvieron alícuotas de las fases gástrica e intestinal a los 60 y 120 minutos. De forma paralela se incluyó un blanco de digestión con una mezcla de las enzimas utilizadas a la misma concentración, pero sin la IHH. Las enzimas y reactivos utilizados en el proceso de la digestión gastrointestinal se adquirieron de Merck, Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EE. UU.). Finalmente, los digeridos de las fases oral, gástrica e intestinal se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se determinó siguiendo la metodología de Folin-Cicalteu con algunas modificaciones. Brevemente, se mezclaron 20 μ L de la IHH con 100 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N en microplacas de 96 pocillos y se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Después, se agregaron 80 μ L de carbonato de sodio al 7.5% (p/v), se incubó durante 90 minutos a 37 °C en ausencia de luz. Después se midió la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas (Thermo Scientific Multiskan GO, Vantaa, Finlandia). Se usó ácido gálico como estándar de referencia para elaborar la curva de calibración con concentraciones de 1-100 μ g/mL y un blanco para obtener las concentraciones de polifenoles totales. Todas las muestras se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como el promedio de miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG g⁻¹).

Determinación de actividad antioxidante por DPPH

La actividad antioxidante de la IHH se determinó por el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) descrito por Torre et al. (15) con algunas modificaciones. Las muestras de IHH y digeridos fueron diluidas a diferentes concentraciones. En una placa de 96 pocillos se mezclaron 150 μ L de muestra con 150 μ L de solución DPPH 0.04 mg/mL diluido en metanol-agua (80:20) y la solución se incubó durante 30 minutos a 25 °C en ausencia de luz. Después se midió la absorbancia a 517 nm utilizando un lector de microplacas (Thermo Scientific Multiskan GO, Vantaa, Finlandia). La inhibición de radicales DPPH se calculó como porcentaje utilizando la ecuación 1:

$$\text{Inhibición radicales DPPH (\%)} = \frac{(A1 - A2)}{A1} \times 100 \quad (1)$$

Donde A1 es la absorbancia obtenida del blanco y A2 es la absorbancia de la muestra. La concentración de las muestras que inhibe el 50% de los radicales DPPH (valor IC₅₀) se calculó a partir de la regresión no lineal según las curvas dosis-respuesta.

Determinación de actividad antioxidante ABTS

El ensayo de actividad de barrido de radicales 2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) se realizó según el método descrito por Gan y Baroutian (16). El radical de monocatión

ABTS** se obtuvo tras la reacción de ABTS con solución de persulfato de potasio 2.45 mM en PBS para obtener una concentración final de 7 mM. Se incubó a temperatura ambiente (25 °C) y oscuridad durante 16 horas. Posteriormente, se diluyeron 800 µL de esta solución en 40 mL de PBS y se ajustó la absorbancia hasta obtener un rango de 0.650 a 0.750 a una longitud de onda 734 nm. Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizaron 10 µL de la muestra en diluciones a diferentes concentraciones y se agregó 190 µL del radical ABTS. Se incubó a 25 °C por 6 minutos y se midió la absorbancia a 734 nm en un lector de microplacas (Multiskan GO Thermo Scientific, Finlandia). La inhibición de radicales ABTS se calculó como porcentaje utilizando la ecuación 2:

$$\text{Inhibición radicales ABTS (\%)} = \frac{(A1 - A2)}{A1} \times 100 \quad (2)$$

Donde A1 es la absorbancia obtenida del blanco y A2 es la absorbancia de la muestra. La concentración de las muestras que inhibe el 50% de los radicales ABTS (valor IC₅₀) se calculó a partir de la regresión no lineal según las curvas dosis-respuesta.

Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos totales

La bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos se evaluó calculando la concentración de los compuestos fenólicos totales presentes en la fase intestinal respecto a su concentración original en la muestra no digerida. El cálculo se realizó utilizando la ecuación 3:

$$\text{Bioaccesibilidad (\%)} = \frac{A}{B} \times 100 \quad (3)$$

Donde: A es el contenido fenólico total (mg g⁻¹ bs) en muestras después de la digestión intestinal y B es el contenido fenólico total (mg g⁻¹ bs) en muestras antes de la digestión.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software GraphPad Prism 9. Para evaluar la actividad antioxidante (DPPH y ABTS), se calculó el IC₅₀ mediante el uso de modelos de regresión no lineales. Los resultados de los compuestos fenólicos totales, la bioaccesibilidad y los valores de IC₅₀ de la actividad antioxidante se presentan como media ± desviación estándar de las pruebas realizadas por triplicado. Además, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para comparar las medias obtenidas.

RESULTADOS

La IHH mostró un alto contenido de compuestos fenólicos (17.81 ± 1.87 mg EAG g⁻¹ bs). Sin embargo, después de la digestión gástrica e intestinal, se observó una disminución en el contenido fenólico (14.18 ± 0.46 y 13.51 ± 0.04 mg EAG g⁻¹ bs, respectivamente) que podría estar relacionada con reacciones químicas que promueven la hidrólisis, oxidación y polimerización de estos compuestos, dando como resultado derivados fenólicos con mayor o menor actividad biológica (17) (Figura 1A).

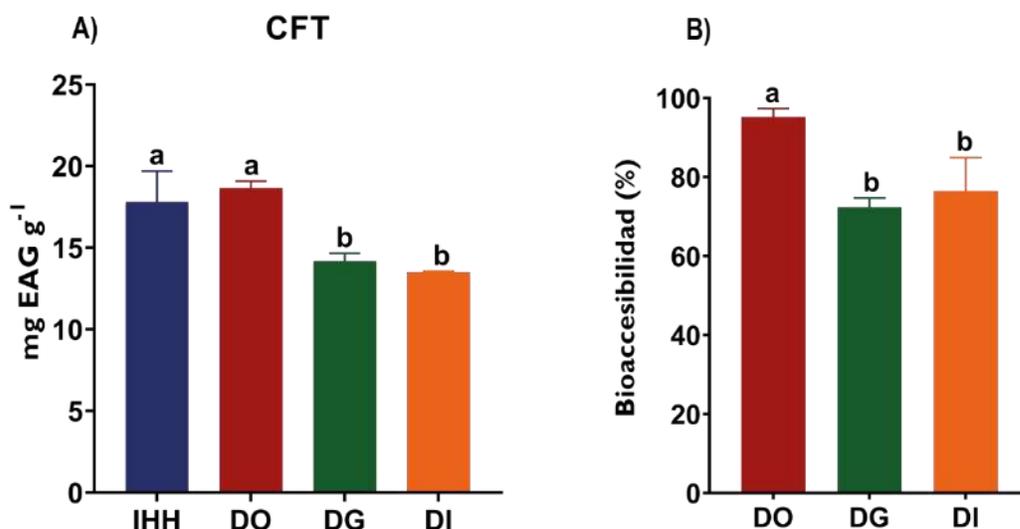


Figura 1. Contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) (A) y porcentaje de bioaccesibilidad de CFT (B) en la infusión de hojas de higuera (IHH) durante la digestión *in vitro*. Digestión oral (DO), digestión gástrica (DG) y digestión intestinal (DI). Media \pm desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre muestras (p < 0.05).

Estos resultados son consistentes con investigaciones previas realizadas en extractos metanólicos de hojas de *Ficus carica* los cuales presentaron un contenido fenólico de 16.11 mg EAG g⁻¹ bs; sin embargo, en el extracto acuoso se informó un contenido fenólico menor 6.29 mg EAG g⁻¹ bs (18). La bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos totales al final de la digestión gastrointestinal simulada fue de 76.46% (Figura 1B).

En la actividad antioxidante por el ensayo de DPPH, no se observaron diferencias significativas entre la IHH y sus digeridos, obteniendo valores de IC₅₀ entre 126.95 y 193.15 μ g/mL (Figura 2A). Estos resultados son superiores a los valores reportados en estudios anteriores, donde se encontró un valor de IC₅₀ de 259 μ g/mL en un extracto etanólico (19). Esto puede deberse a que el tratamiento enzimático, así como los cambios de pH de la digestión simulada modifican la estructura de los compuestos, aumentando su capacidad antioxidante como se ha informado previamente por Karás *et al.* (20). Aunado a que las hojas de *Ficus carica* contienen flavonoides como la quercetina y el kaempferol que son compuestos que tienen mejor inhibición del radical DPPH debido a la alta polaridad del medio acuoso (MeOH-H₂O 80:20).

Por otro lado, los digeridos intestinales exhibieron una mayor actividad antioxidante evaluada mediante el método ABTS con valores de IC₅₀ = 1190 \pm 47.84 μ g/mL, mientras que la IHH presentó un IC₅₀ = 1625.33 \pm 146.96 μ g/mL, esto podría atribuirse a que la técnica ABTS presenta una mayor sensibilidad para detectar concentraciones más bajas de antioxidantes (21) (Figura 2B). Los valores de inhibición del radical ABTS son menores a lo observado por Li *et al.* quienes probaron una concentración de 2500 μ g/mL obteniendo un porcentaje de inhibición de 80.28% (22).

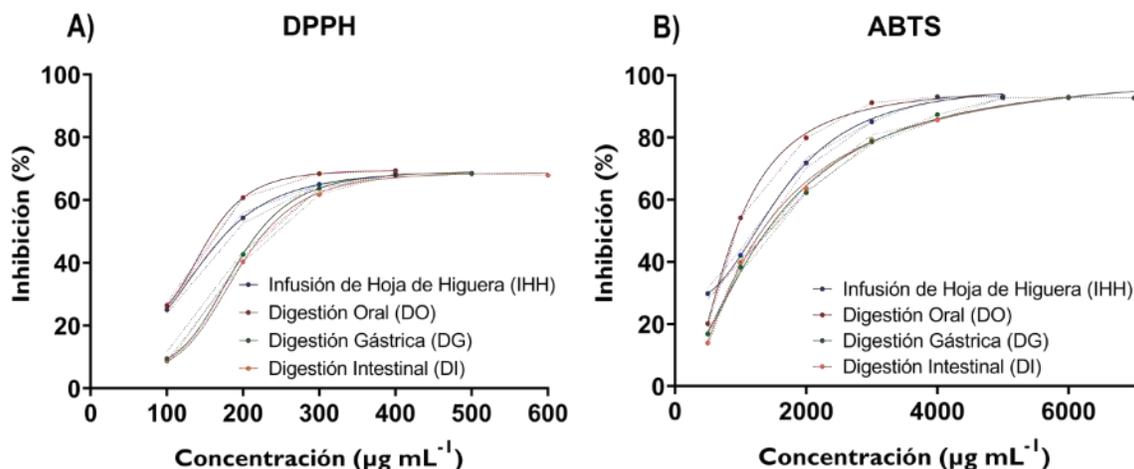


Figura 2. Efecto de la digestión gastrointestinal simulada en la IHH y su actividad antioxidante por DPPH (A) y ABTS (B). Se muestran las curvas obtenidas del ajuste no lineal de los valores del porcentaje de inhibición (%) de diferentes concentraciones de IHH y sus digeridos orales (DO), gástricos (DG) e intestinales (DI). Media \pm Error estándar.

CONCLUSIONES

La infusión de hojas de higuera es una fuente significativa de compuestos fenólicos y antioxidantes, los cuales se mantienen relativamente estables durante la digestión simulada. Por lo tanto, el consumo de la infusión de hojas de *Ficus carica* podría ser una alternativa prometedora para prevenir y/o tratar trastornos asociados con el estrés oxidativo.

BIBLIOGRAFÍA

1. FAO. International tea market: market situation, prospects and emerging issues [Internet]. Roma, Italia; 2022. Disponible en: <https://www.fao.org/3/cc0238en/cc0238en.pdf>
2. Etheridge CJ, Derbyshire E. Herbal infusions and health. *Nutr Food Sci*. 2019;50(5):969–85.
3. Li Z, Yang Y, Liu M, Zhang C, Shao J, Hou X, et al. A comprehensive review on phytochemistry, bioactivities, toxicity studies, and clinical studies on *Ficus carica* Linn. leaves. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;137:111393.
4. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct*. 2014;5(6):1113–24.
5. Sharifi-Rad M, Anil Kumar N V., Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, et al. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front Physiol*. 2020;11.
6. Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(9):689–709.
7. Albuquerque BR, Heleno SA, Oliveira MBPP, Barros L, Ferreira ICFR. Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food Funct*. 2021;12(1):14–29.
8. Olszowy M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;144:135–43.

9. Bilal Hussain M, Hassan S, Waheed M, Javed A, Adil Farooq M, Tahir A. Bioavailability and Metabolic Pathway of Phenolic Compounds. *En: Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*. IntechOpen; 2019.
10. Ribas-Agustí A, Martín-Belloso O, Soliva-Fortuny R, Elez-Martínez P. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*. el 13 de octubre de 2018;58(15):2531–48.
11. H. Ayuntamiento de Tatatila. Plan de Desarrollo Municipal de Tatatila 2022-2025. Veracruz, México; 2022.
12. Niemira BA. Relative efficacy of sodium hypochlorite wash vs. irradiation to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 internalized in leaves of romaine lettuce and baby spinach. *J Food Prot* 2007; 70:2526– 32.
13. Ortega-Vidal J, Ruiz-Riaguas A, Fernández-de Córdoba ML, Ortega-Barrales P, Llorent-Martínez EJ. Phenolic profile and antioxidant activity of *Jasonia glutinosa* herbal tea. Influence of simulated gastrointestinal *in vitro* digestion. *Food Chem*. 2019;287:258–64.
14. Brodkorb A, Egger L, Alminger M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc*. 2019;14(4):991–1014.
15. de Torre MP, Cavero RY, Calvo MI, Vizmanos JL. A Simple and a Reliable Method to Quantify Antioxidant Activity *In Vivo*. *Antioxidants*. 2019;8(5):142.
16. Gan A, Baroutian S. Subcritical water extraction for recovery of phenolics and fucoidan from New Zealand Wakame (*Undaria pinnatifida*) seaweed. *J Supercrit Fluids*. 2022;190:105732.
17. Khochapong W, Ketnawa S, Ogawa Y, Punbusayakul N. Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extract. *Food Chem*. 2021;348:129094.
18. Ergül M, Ergül M, Eruygur N, Atas M, Uçar E. *In Vitro* Evaluation of the Chemical Composition and Various Biological Activities of *Ficus carica* Leaf Extracts. *Turk J Pharm Sci*. 2019;16(4):401–9.
19. Karaś M, Jakubczyk A, Szymanowska U, Złotek U, Zielińska E. Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals. *Int J Food Sci Technol*. 2017;52(2):291–305.
20. Abdel-Rahman R, Ghoneimy E, Abdel-Wahab A, Eldeeb N, Salem M, Salama E, et al. The therapeutic effects of *Ficus carica* extract as antioxidant and anticancer agent. *South African Journal of Botany*. 2021;141:273–7.
21. Rodríguez Aguirre OE, Andrade Barreiro WA, Andrade Barreiro WA, Diaz Lopez FE, Diaz Lopez FE. Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de Tecnología*. 2016;14(2).
22. Li C, Yu M, Li S, Yang X, Qiao B, Shi S, et al. Valorization of Fig (*Ficus carica* L.) Waste Leaves: HPLC-QTOF-MS/MS-DPPH System for Online Screening and Identification of Antioxidant Compounds. *Plants*. 2021;10(11):2532.

GOMA DE DULCE ELABORADO A BASE DE PLANTAS MEDICINALES PARA DISMINUIR LA CEFALEA TENSIONAL MÁS COMÚN

Ana Lilia Martínez Velázquez¹, Erika Abigail Palao Cruz², Liliana Lizeth Soto Martínez², Martha Elena Camarillo Márquez², Juanita Guadalupe Fernández Alvarado², Priscila Anahí Beltrán Hernández², Cynthia Guerrero Bermea²

¹Tecnológico Nacional de México/ITES de la Región Carbonífera
9326@rcarbonifera.tecnm.mx

RESUMEN

Una problemática que sufren los seres humanos en su salud es el dolor de cabeza más común, también llamado “cefalea tensional”, el cual es provocado por tensión muscular, cansancio, estrés etc; derivado de esto, el ser humano por inconsciente al presentar cualquier mínimo dolor, optan por el consumo de pastillas farmacéuticas.

Es bien sabido que hoy en día existe una problemática con las pastillas farmacéuticas debido a que la mayoría de las personas las consumen y reciben las consecuencias después de un tiempo. La mayoría de las veces, las pastillas mejoran nuestro sentir, reducen dolores, combaten infecciones y de más; pero también pueden causar reacciones adversas, como interacciones con otros medicamentos, efectos secundarios y alergias. Puesto que son químicos que a un determinado tiempo deterioran la salud.

Por ello, surge la idea de crear un producto comestible elaborado a base de plantas medicinales que se encuentran en México, cuyo objetivo es de disminuir el dolor de cabeza más común.

Es molesto que, al estar trabajando, en la escuela, o simplemente haciendo las actividades cotidianas, se presente un dolor de cabeza, puesto que muchas veces afecta en el rendimiento y el cumplimiento de ellas o simplemente no te permite seguir avanzando con ello.

Por lo anterior es que se ideó desarrollar una goma de dulce a base de ingredientes que contienen las propiedades de cocción de distintas hierbas y raíces naturales, que dichos elementos combinados ayudan a reducir el dolor de cabeza.

Dicha goma, es una opción más de un producto de consumo orgánico, para disminuir el dolor de cabeza.

El proyecto se planea que se lleve a cabo en dos fases, la primera es la producción de la gomita y la segunda, es el estudio para medir las variables o los principales factores que influyen para lograr el objetivo de dicho producto.

INTRODUCCIÓN

Existen una infinidad de prácticas para el cuidado de la salud, desde las más famosas hasta las más desconocidas, y elegir la que parece tener el efecto más positivo y la conveniencia económica ha llevado a muchos a recurrir a la llamada medicina alternativa.

Actualmente, existe una gran controversia acerca del uso excesivo de las pastillas farmacéuticas, puesto que además de dañar al medio ambiente, dañan el sistema inmunológico del ser humano, donde a un determinado tiempo, puede presentar consecuencias adversas.

Algunos estudios han generado resultados es que están convenciendo de que la medicina preventiva es eficaz, útil, necesaria, importante y que salva vidas y evita sufrimiento. Sin embargo, es una tarea compleja, ya que se realiza con individuos, y la principal premisa que debe tener todo médico es la de 'primum non nocere'; es decir, 'ante todo: no dañar'. En este sentido, la medicina preventiva tiene también desventajas y puede causar sufrimiento a las personas

Por ello, una opción más viable es la medicina alternativa, puesto que el uso de la herbolaria, lo cual significa el utilizar plantas medicinales que contribuyan positivamente al cuidado de la salud.

Otra opinión es referente al uso de las plantas medicinales que han surgido y han sido aceptadas con mucho interés en la cultura de muchos países, a la vez que ha contribuido con importantes avances en la comunidad médica. El repentino renacer de las plantas medicinales puede ser atribuido a una creciente insatisfacción con las prácticas médicas convencionales”.

En el presente proyecto, se da a conocer un producto inspirado en disminuir el dolor de cabeza más común, mediante un producto comestible elaborado a base de plantas medicinales, que favorece de buena manera al sistema inmunológico, evitando químicos como lo son las pastillas farmacéuticas más comunes.

TEORÍA

Antecedentes

Se realizó una investigación minuciosa en diversas fuentes para identificar antecedentes de lo que existe y ha existido como las patentes acerca de los productos que pueden estar relacionado con el proyecto, en lo que se encontró lo siguiente:

“Anticuerpo anti-receptor CGRP para usarse en tratar o prevenir dolor de cabeza por migraña”.

Métodos de profilaxis de migraña utilizando anticuerpos antirreceptores CGRP o fragmentos de unión. En particular, se describen los métodos para prevenir o reducir la ocurrencia de dolor de cabeza por migraña en un paciente en necesidad del mismo comprende administrar al paciente un receptor anti-CGRP o fragmento de unión de acuerdo con los regímenes de dosificación específicos. También se describen composiciones farmacéuticas y dispositivos de administración que comprenden anticuerpos antirreceptores CGRP o fragmentos de unión para el uso en los métodos.

“Anticuerpos antagonistas dirigidos contra el péptido relacionado con el gen de calcitonina y métodos que usan los mismos”

La invención presenta métodos para prevenir o tratar trastornos asociados con CGRP tal como síntomas vasomotores y/o dolores de cabeza (por ejemplo, migraña, dolor de cabeza en racimos, y el dolor de cabeza por tensión) mediante la administración de un anticuerpo antagonista anti-CGRP; también se proporcionan composiciones para usarse en los métodos descritos; también se describen el anticuerpo antagonista G1 y anticuerpos derivados de G1 dirigidos a CGRP.

“Composición farmacéutica para el tratamiento de dolor de cabeza, y método de preparación de la misma”.

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para el tratamiento del dolor de cabeza, preparada a partir de once hierbas medicinales Chinas: Raíz de angélica china, ligusticum chuanxiong, radix paeoniae lactiflorae, rizoma preparada de rehmannia, uncaria tomentosa, milletia leatherleaf, prunella vulgaris, semilla sicklesenna, concha perla, tubérculo corydalis y ásaro, y una cantidad adecuada de materiales adyuvantes. Un método de preparación de la composición

farmacéutica, y usos de la misma en la preparación de medicamentos para el tratamiento de varios dolores de cabeza, síndrome del nervio craneal traumático, mareos y vértigo, irritación e irritabilidad, insomnio y somnolencia.

Aunque estos productos tienen la misma finalidad que el proyecto, se puede decir que no es lo mismo ya que nuestro producto contiene ciertas características que lo hacen único en México, como por ejemplo que su materia prima principal son las plantas medicinales, en donde se extraen y logran aprovechar sus beneficios a través de un proceso, teniendo como resultado que en su mayoría es un producto natural.

Pregunta / Problema de Investigación

Hoy en día la cefalea tensional es un tipo de dolor de cabeza de los más comunes puesto que cada persona está expuesta al estrés, cansancio, tensión y estos son los principales detonantes de esta molestia.

Ante este problema muchas personas optan por consumir productos farmacéuticos que ayudan a disminuir este dolor, sin embargo, estos medicamentos pueden traer consecuencias como efectos secundarios como lo son malestares estomacales, gastrointestinales, reacciones alérgicas y demás.

Por ello una opción más viable es el consumir un producto elaborado a base de plantas medicinales que tengan las propiedades para disminuir el objetivo del producto.

Entonces, ¿Cómo la herbolaria mexicana puede tener un efecto positivo en la disminución de la cefalea tensional común? ¿Cómo la espinosilla (Loeselia mexicana), menta (Calamintha macrostoma) y toronjil (Cedronella mexicana) pueden contribuir a la disminución de la cefalea tensional común?

Justificación

El dolor de cabeza es una de las molestias que más frecuente se presenta en el ser humano. El cual puede llevar desde una enfermedad grave o simplemente ser síntoma de cansancio, estrés, tensión etc.

(J, 2019) menciona “La cefalea tensional es la cefalea más común y el trastorno neurológico más prevalente, por lo que tiene un impacto socioeconómico considerable. En su fisiopatología intervienen factores miofasciales peri craneales periféricos y componentes del sistema nervioso central. El dolor suele ser bilateral, opresivo y tiene una intensidad de leve a moderada. Los subtipos episódico y crónico se distinguen por la duración y la frecuencia del dolor de cabeza.” La población de hoy vivió una pandemia a nivel mundial “COVID 2019” en la cual por el estrés del encerramiento y la tensión que se vivía, muchas personas sufrían de este dolor de cabeza, tanto las personas afectadas por el virus y las que no. Centrándonos en las personas que su dolor de cabeza era causado por el encerramiento, la mayoría de ellas se automedicaban para combatir dicho dolor.

Es por ello, que se realizó una investigación de tres tipos de plantas medicinales, las cuales cada una de ellas tiene grandes propiedades para disminuir este tipo de dolor, y que al juntarla se logra un mayor efecto. (véase FIG. 1)

“Esta creciente utilización de las plantas medicinales como herramienta terapéutica por parte de las madres de familia, va más allá de una simple costumbre y no solo se debe a un aumento en el interés por el uso de los tratamientos catalogados como naturales en el cuidado y curación de los problemas de salud, sino también a la presencia de evidencia científica comprobada respecto a su seguridad eficacia, y efectividad; fundamentalmente por ser productos naturales que por su misma condición y

naturaleza biológica, producen menos efectos adversos que los medicamentos convencionales” menciona (CAJALEÓN DE LA CRUZ).

PLANTAS UTILIZADAS EN LA ELABORACIÓN DEL PRODUCTO		
Ingrediente	Beneficio	Referencia Bibliográfica
Espinosilla “Loeselia mexicana” / Artemisa mexicana Wild.	“La Loeselia mexicana, conocida comúnmente con el nombre espinosilla, disminuye la temperatura corporal, previene la caída del cabello y la aparición de caspa, además de ayudar contra el dolor de cabeza y enfermedades respiratorias.”	(MÉXICO, Sembrando vida, 2020)
Menta (Calamintha macrostoma)	“En la medicina tradicional herbolaria, el aceite de menta es el reemplazo perfecto del paracetamol, siendo más eficaz para el alivio del dolor y con la ventaja de ser cien por ciento natural.”	(MÉXICO, Chiqueadores, 2019)
Toronjil (Cedronella mexicana)	“Uso interno: afecciones nerviosas (depresión, nerviosismo, palpitaciones, insomnio); dolor de cabeza; molestias estomacales y respiratorias.”	(Tradicionales)

FIG. 1 Tabla comparativa de las tres plantas y sus beneficios como principales ingredientes de la gomita.

Al mezclar estas tres plantas, se obtiene un efecto que disminuye el dolor de cabeza.

Es por ello por lo que se pensó en elaborar un producto comestible que además de tener un sabor y textura agradable, tenga la función de disminuir el dolor de cabeza más común y que además es fácil y práctico su consumo porque se puede almacenar y llevar a todas partes. Dicho producto está elaborado a base de las plantas medicinales antes mencionadas, por lo cual, es un producto natural. Por lo tanto, es un producto que no tiene efectos adversos como los medicamentos farmacéuticos comunes.

Como propuesta de valor radica en la forma de presentación, en lugar de un té es una gomita comestible, de esta manera permite que sea más ágil el traslado, y sería más agradable el ingerirlo para las personas que tengan algún problema con ingerir medicamentos comunes, ya que dicho producto cuenta con un sabor agradable y lo convierte más atractivo.

Objetivos

Objetivo general:

Conocer y evaluar el grado de efectividad de las plantas medicinales en la disminución de la cefalea tensional más común como base para la elaboración de una gomita para el consumo humano.

Objetivos específicos:

- Conocer los beneficios de la herbolaria mexicana con fines terapéuticos como una alternativa a la disminución de la cefalea tensional más común en el ser humano.
- Identificar que plantas tienen más propiedades medicinales para contribuir a la disminución de la cefalea tensional común.
- Conocer las condiciones, procedimientos y normatividades que rigen la elaboración de productos de tipo medicinal a base de plantas para el consumo humano.
- Identificar y evaluar qué factores o variables contribuyen en la efectividad para la disminución de la cefalea tensional más común al consumir la gomita.
- Aplicar una prueba piloto para la elaboración de la gomita a base de plantas medicinales.

Hipótesis

Ho: Si se consume una gomita elaborada a base de plantas medicinales contribuirá en la disminución de la cefalea tensional común en el ser humano.

Ha: Si se consume una gomita elaborada a base de plantas medicinales NO contribuirá en la disminución de la cefalea tensional común en el ser humano.

FASE EXPERIMENTAL

El presente proyecto siguió una metodología dada que su naturaleza en la primera fase fue investigación pura o básica, ya que pretendía obtener datos fidedignos a través de diferentes fuentes (de índole documental y de campo) con el fin de ampliar los conocimientos y fortalecer los argumentos para la producción de un producto (gomita) comestible elaborado a base de plantas medicinales encontradas dentro de la herbolaria mexicana.

En relación al acopio de información se realizó de la siguiente manera:

I. Documental.

Cabe señalar que los fundamentos teóricos de dicho proyecto se sustentan en fuentes confiables y verídicas, puesto que se utilizaron distintas herramientas tecnológicas tales como bibliotecas virtuales, obteniendo documentos técnicos de estas plataformas, además de libros en físico en los cuales se obtuvo información muy importante.

II. De campo.

Se realizó un estudio de mercado en posibles consumidores de dicho producto donde se diseñó y aplicó una encuesta en línea a través de Google Forms, como instrumento para la recolección de datos en una pequeña muestra representativa caracterizada por ser en su mayoría jóvenes universitarios viviendo en periodo de cierre de curso, con una sobrecarga de tareas, exámenes, presentación de proyectos finales y bajo un estado de estrés, ansiedad, desencadenando padecimiento de cefalea tensional.

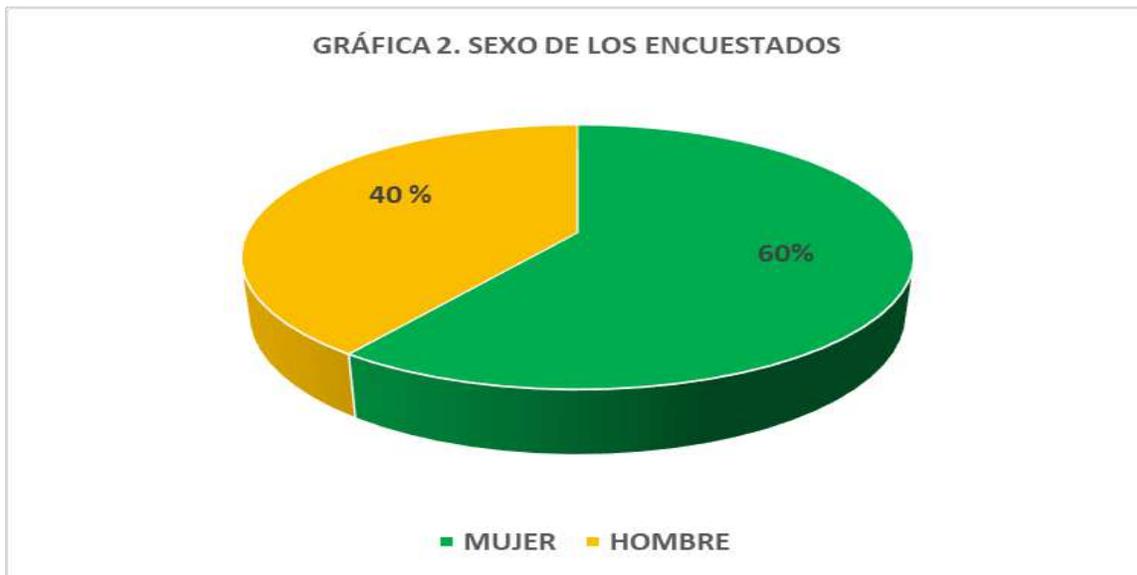
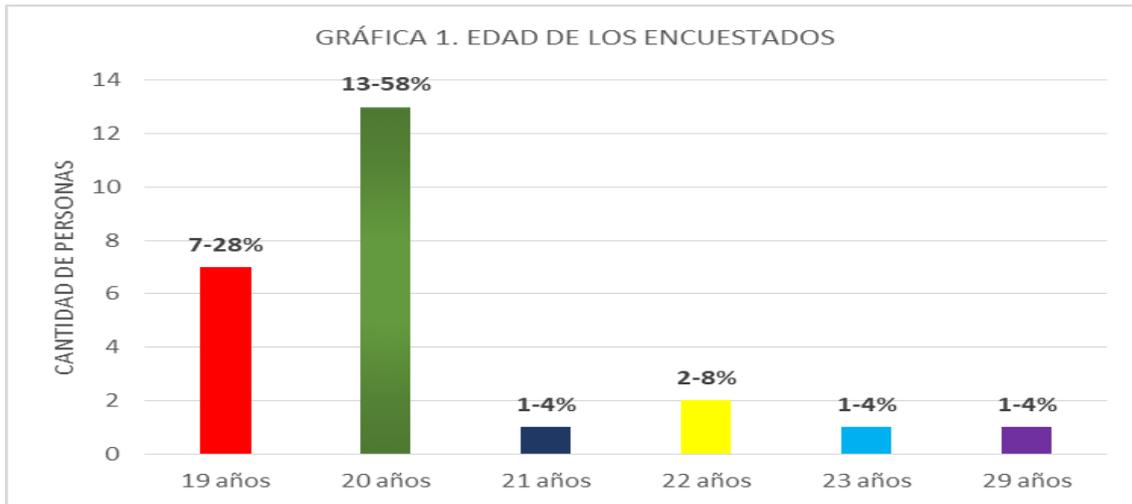
Siguiendo el siguiente proceso:

- a) Elaboración de instrumentos.
- b) Codificación de información.

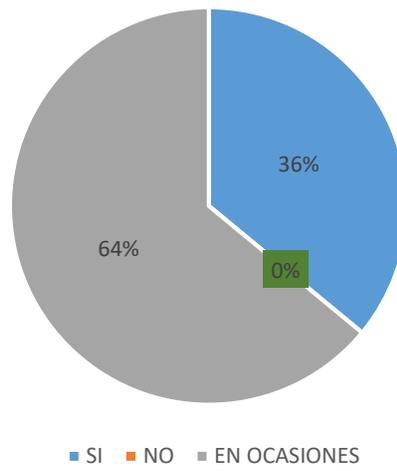
c) Tabulación de datos y representación en gráfica.

Dentro del rango de edad de la población en su mayoría fueron personas de 19 y 20 años de edad, mujeres y hombres y estudiantes en su generalidad, los cuales mencionaron que consideran que el dolor de cabeza que se les presenta puede ser debido al estrés.

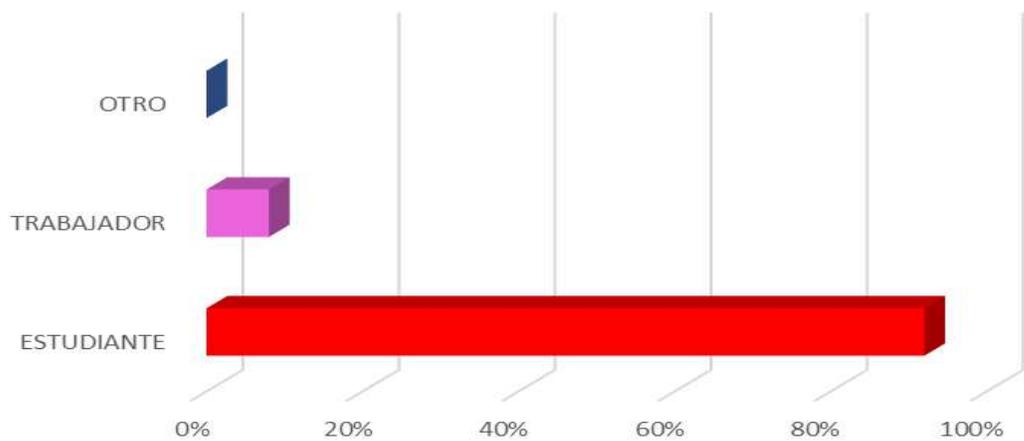
Se obtuvieron las siguientes respuestas:

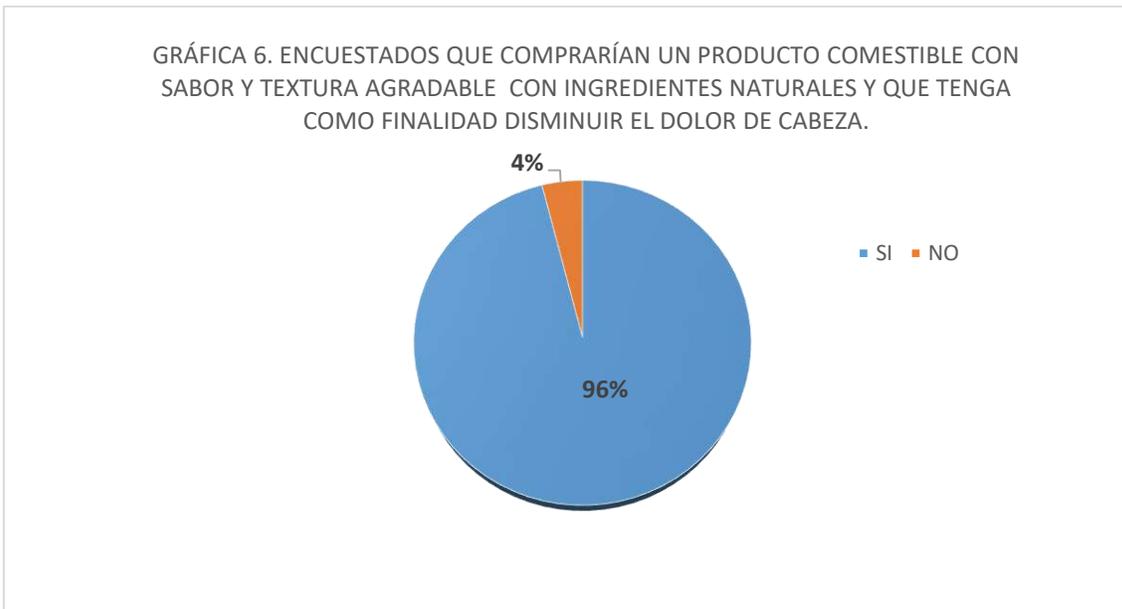
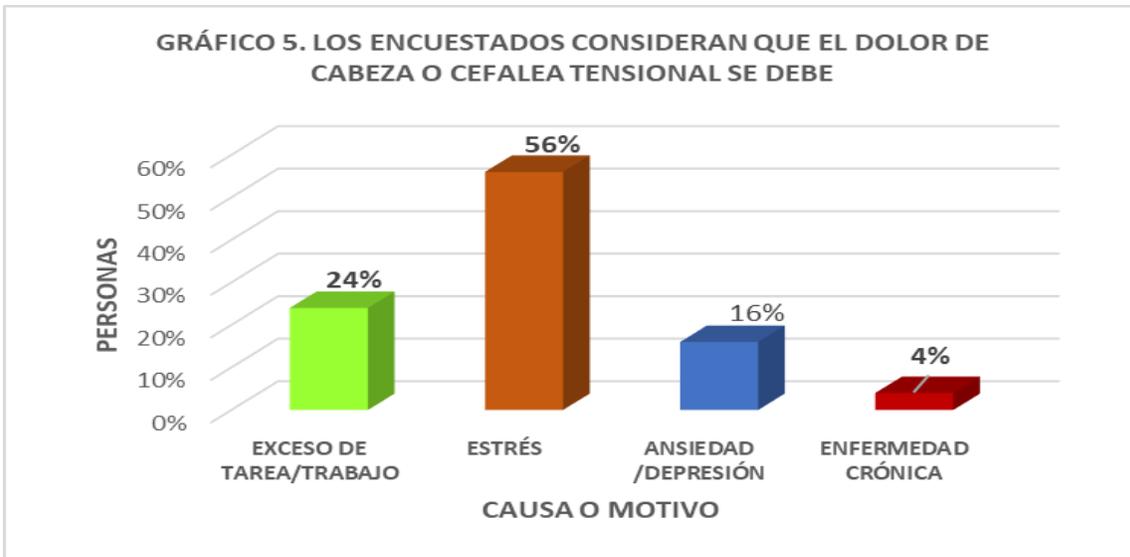


GRÁFICA 3. PADECIMIENTO DE DOLOR DE CABEZA O CEFALEA COMÚN



GRÁFICA 4. OCUPACIÓN DEL ENCUESTADO





III. Experimental

Se hizo una prueba piloto para la producción del primer prototipo de la gomita comestible, primero se realizaron distintas pruebas para que esta tuviese una consistencia y sabor agradable. Puesto que nuestra propuesta es una gomita comestible a base de plantas medicinales con el objetivo de disminuir el dolor de cabeza, con un sabor, olor y textura agradable.

Para el proceso de producción de este producto, se utilizó la principal materia prima, las plantas que fueron compradas en la Región Carbonífera.

También se utilizó materia prima secundaria que sirvió para la consistencia, la caducidad, el sabor etc., además utilizar productos naturales para evitar el exceso de uso químicos saborizantes y conservadores, además de optar por proveedores que existieran en la región.

Es importante señalar, que para el presente proyecto está planeado en *dos etapas*: La primera fase se llevó a cabo una investigación pura, de campo y la prueba piloto experimental para la elaboración de la gomita, cabe señalar que aún está sujeta a modificaciones para mayor efectividad. Por lo que se continuará con la segunda fase que consistirá en realizar una comparación con distintos placebos para verificar la eficacia de nuestro producto, midiendo diversos factores como lo es la cantidad de tiempo de vida útil, cantidad de dosis para el consumo, tiempo promedio de efectividad al consumo, entre otros.

RESULTADOS

Se observó que al mezclar tres tipos de plantas, se obtiene un efecto que disminuye el dolor de cabeza. Se obtuvo un producto comestible que además de tener un sabor y textura agradable, tiene la función de disminuir el dolor de cabeza más común. Dicho producto es natural. Por lo tanto, es un producto que no tiene efectos adversos como los medicamentos farmacéuticos comunes.



FIG.2 Resultado de la prueba piloto del primer prototipo de la gomita

Resultado de la elaboración de la gomita:

Se pudo comprobar tiene un sabor y textura agradable, además de que cuenta con dos presentaciones. Y lo primordial, es que ayuda a disminuir el dolor de cabeza. (Ver FIG.2)

CONCLUSIONES

La información, investigaciones y pruebas realizadas a lo largo del proyecto tuvieron rendimiento en la producción de una goma fácil de ingerir a través de la herbolaria en función de utilizar sus nutrientes para malestares que aquejan a las personas como el dolor de cabeza impactando en mejorar su salud.

Como se menciona anteriormente, esta es la primera fase del proyecto, de la cual se obtuvo un gran resultado, por ende, se seguirá trabajando en la segunda fase.

BIBLIOGRAFÍA

1. CAJALEÓN DE LA CRUZ, J. A. (s.f.). *Uso tradicional de plantas medicinales para el tratamiento de infecciones respiratorias agudas en niños menores de 5 años de la comunidad rural de Margos-Huánuco 2017*. Obtenido de https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915646/uso-tradicional-de-plantas-medicinales-para-el-tratamiento-de-i_dQPcgb4.pdf
2. J, R. C. (2019). Cefalea tensional. *Medicina - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(71), 4154-4162.
3. MÉXICO, G. D. (08 de Mayo de 2019). *Chiqueadores*. Obtenido de Remedios caseros 100% naturales: <https://www.gob.mx/siap/articulos/chiqueadores#:~:text=Menta%3A%20en%20la%20medicina%20tradicional,un%20leve%20y%20suave%20masaje>.
4. MÉXICO, G. D. (17 de Abril de 2020). *Sembrando vida*. Obtenido de Plantas medicinales: Nuestro patrimonio: <https://www.gob.mx/bienestar/sembrandovida/articulos/plantas-medicinales-nuestro-patrimonio>
5. Rubeinstein, E. (Noviembre de 2016). Los nuevos enfermos. Ventajas y desventajas de la medicina preventiva. (A. C. Reid, Entrevistador)
6. Salud, O. M. (08 de Abril de 2016). Obtenido de Cefaleas: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/headache-disorders#:~:text=son%20m%C3%A1s%20prominentes.-,Cefalea%20tensional,de%20ciertos%20grupos%20de%20poblaci%C3%B3n.&text=La%20cefalea%20tensional%20a%20menudo,una%20relaci%C3%B3n%20de%203%3A2>
7. Tradicionales, M. H. (s.f.).

EDITORAS

Amalia Martínez García
Cristina E. Solano Sosa
María Eugenia Sánchez Morales
Gloria Verónica Vázquez García
Alexandra Monsetrrat García



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.



9 786078 821310

ISBN TOMO II
BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS



9 786078 821273

ISBN OBRA COMPLETA
INVESTIGACIONES Y DESARROLLOS
TECNOLÓGICOS EN MÉXICO