

# TEMAS SELECTOS DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA Y ALIMENTOS EN EL NOROESTE DE MÉXICO



**ITSON**  
Educar para  
Trascender

COMPILADORAS  
**OLGA NYDIA CAMPAS BAYPOLI**  
**EUNICE GUZMÁN FIERROS**



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA  
Educar para Trascender

# TEMAS SELECTOS DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA Y ALIMENTOS EN EL NOROESTE DE MÉXICO

**COMPILADORAS**

DRA. OLGA NYDIA CAMPAS BAYPOLI  
M.C. EUNICE GUZMÁN FIERROS

**EDICIÓN LITERARIA**

MTRA. MARISELA GONZÁLEZ ROMÁN  
LIC. MARÍA DE JESÚS CABRERA GRACIA

**DISEÑO DE PORTADA**

MTRA. DULCE ZYANYA ISLAS LEE  
MARCO ALEJANDRO CRUZ MUÑOZ

**GESTIÓN EDITORIAL**

OFICINA DE PUBLICACIONES  
MTRA. MARISELA GONZÁLEZ ROMÁN

2016, Instituto Tecnológico de Sonora  
5 de Febrero, 818 Sur, colonia Centro,  
Ciudad Obregón, Sonora, México; 85000  
Sitio web: [www.itson.mx](http://www.itson.mx)  
rectoria@itson.edu.mx

Se prohíbe la reproducción total o parcial de la presente obra, sí como su comunicación pública, divulgación o transmisión, mediante cualquier sistema o método, electrónico o mecánico (incluyendo el fotocopiado, la grabación o cualquier sistema de recuperación y almacenamiento de la información), sin consentimiento por escrito del Instituto Tecnológico de Sonora.

ISBN: 978-607-609-170-8 (edición electrónica)

Primera edición.  
Impreso en México

**DIRECTORIO ITSON**

**Dr. Javier José Vales García**  
RECTOR DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA

**Dr. Jaime Garatuza Payán**  
VICERRECTORÍA ACADÉMICA

**Dr. Javier Rolando Reyna Granados**  
DIRECCIÓN ACADÉMICA DE RECURSOS NATURALES

**Dra. Olga Nydia Campas Baypoli**  
JEFATURA DEL DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS ALIMENTARIAS

**Mtra. Eunice Guzmán Fierros**  
RESPONSABLE DEL PROGRAMA EDUCATIVO DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**Mtro. Raúl Holguín Soto**  
RESPONSABLE DEL PROGRAMA EDUCATIVO DE LICENCIATURA EN TECNOLOGÍA  
DE ALIMENTOS

**Mtra. Marisela González Román**  
OFICINA DE PUBLICACIONES

## ÍNDICE

	Página
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>v</b>
<b>ÁREA TEMÁTICA: CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS</b>	
<b>Capítulo I:</b> COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES VEGETALES CONSUMIDOS EN MÉXICO Y SU APORTE EN LA INGESTA DIARIA RECOMENDADA. <b>Longoria Sánchez, A.; Valdez Morales, M.; Medina Godoy, S. y Espinosa Alonso, L.G.</b>	<b>7</b>
<b>Capítulo II:</b> CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE CINCO PLANTAS MEDICINALES DEL SUR DE SONORA. <b>Pérez Morales, I.I.; Sarabia Meza, M.; Campas Baypoli, O.N.; López Cervantes, J. y Rodríguez Ramírez, R.</b>	<b>22</b>
<b>Capítulo III:</b> DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE SEMILLAS DE LAS PLANTAS CRUCÍFERAS. <b>Angulo Gallegos, O.E.; Campas Baypoli, O.N.; Cantú Soto, E.U.; López Cervantes, J. y Sánchez Machado, D.I.</b>	<b>32</b>
<b>Capítulo IV:</b> FORMULACIÓN DE TORTILLAS DE HARINA, SUPLEMENTADAS CON HOJAS SECAS DE MORINGA ( <i>Moringa oleifera</i> ). <b>Pérez Tello, G.O.; Leyva Santi, J.N.; Márquez Castillo, A.; Canett Romero, R. e Islas Rubio, A.R.</b>	<b>42</b>
<b>ÁREA TEMÁTICA: BIOTECNOLOGÍA</b>	
<b>Capítulo V:</b> EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE UN PRODUCTO BIORRACIONAL Y UN INSECTICIDA CONVENCIONAL SOBRE MOSCA BLANCA ( <i>Bemisia tabaci</i> ) EN EL CULTIVO DE SOYA EN EL VALLE DEL YAQUI. <b>Rendón Bojórquez, L.E.; Martínez Carrillo, J.L. y Gutiérrez Coronado, M.A.</b>	<b>55</b>
<b>Capítulo VI:</b> PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS INDÓLICOS EN AISLADOS MICROBIANOS DEL SUELO RIZOSFÉRICO Y SIN CULTIVO ASOCIADOS AL TRIGO EN EL VALLE DEL YAQUI, SONORA. <b>Ibarra Villarreal, A.; Valenzuela Aragón, B.; Lugo Enríquez, C.; Villa Rodríguez, E. y De los Santos Villalobos, S.</b>	<b>66</b>
<b>Capítulo VII:</b> AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA PROTEÍNA AZUL DE MEDUSA BALA DE CAÑÓN <i>Stomolophus meleagris</i> . <b>Tirado López, J.E.; Díaz Tenorio, L.M.; Hernández Corral, E.A.; Gassós Ortega, L.E. y Leyva Soto, L.E.</b>	<b>77</b>

<b>Capítulo VIII:</b>	ESTUDIOS DE BIOADSORCIÓN DE COBRE Y ZINC UTILIZANDO BIOMASA SECA DE LEVADURAS. <b>Ortega Campa, L.; Terán Valdez, D.P.; Certucha Barragán, M.T.; Almendariz Tapia, F.J.; Martínez Meza, R.G. y Monge Amaya, O.</b>	<b>88</b>
<b>Capítulo IX:</b>	PRESENCIA DE HELMINTOS EN AVES DE POSTURA EN UNA GRANJA DEL SUR DE SONORA. <b>Munguía Xóchihua, J.A.; Hernández Martínez, M.A.; Flores Rodríguez, L.A.; Molina Barrios, R.M. y Cedillo Cobián, J.R.</b>	<b>99</b>
<b>Capítulo X:</b>	OBSERVACIÓN DE ABOMASOS DE CAPRINOS CON INFECCIÓN NATURAL DE <i>Haemonchus contortus</i> DEL MUNICIPIO DE BÁCUM, SONORA. <b>Munguía Xóchihua, J.A.; Plancarte Crespo, A.; Nava Balderas, G.; Flores Rodríguez, L.A.; Reyna Granados, J.R. y Hernández Chávez, J.F.</b>	<b>110</b>
<b>Capítulo XI:</b>	RESISTENCIA A TRES COMPUESTOS QUÍMICOS CONTRA NEMÁTODOS GASTROINTESTINALES EN CAPRINOS EN CLIMA SEMIÁRIDO DEL ESTADO DE SONORA. <b>Verdugo Ávila, B.S.; Munguía Xóchihua, J.A.; Ducoing Watty, A.M.; Flores Rodríguez, L.A.; Molina Barrios, R.M. y Cedillo Cobián, J.R.</b>	<b>120</b>
<b>Capítulo XII:</b>	EFEECTO DEL QUITOSANO EN LA MICROPROPAGACIÓN DE SÁBILA ( <i>Aloe vera barbadensis</i> ) CULTIVADA EN EL SISTEMA DE BIORREACTOR DE INMERSIÓN TEMPORAL AUTOMATIZADO. <b>Tineo García, L.; De La Cruz Cruz, Y; Gutiérrez Coronado, M.A.; Castro Espinoza, L. y Murillo Verduzco, I.</b>	<b>131</b>
	<b>ÍNDICE DE AUTORES</b>	<b>141</b>

---

## **INTRODUCCIÓN**

El crecimiento de las sociedades humanas traen consigo retos tan primarios como el de resolver el problema de la alimentación y problemas generales y específicos referentes a cómo lidiar con la contaminación, el mejor aprovechamiento de los recursos, el aprovechamiento de los residuos, la generación de compuestos de alto valor agregado, la temática de la salud, por mencionar solo algunos. México, al igual que otros países, tiene una alta demanda de tecnología adecuada a nuestras circunstancias, limpia y efectiva que nos ayude a resolver nuestros problemas y a generar oportunidades de desarrollo.

El papel de la tecnología de alimentos y de la biotecnología ayudándonos a enfrentar estos retos, ha sido muy valioso; nos proveen de técnicas y métodos, además, generan conocimiento a través de la investigación básica y aplicada. En el Instituto Tecnológico de Sonora, a través del Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, desde el 2009 se han creado espacios al interior de la Universidad donde se convoca a investigadores de toda la República Mexicana y extranjeros a compartir sus experiencias de investigación, en el denominado Congreso Nacional de Biotecnología y Ciencias Alimentarias. En su última edición en 2015, se presentaron interesantes investigaciones en estos ámbitos, por lo que surgió la necesidad de ahondar un poco más a través de un libro con capítulos, que nos presentara de una manera más detallada qué es lo que se está investigando en México, muy particularmente en el norte de nuestro país.

# **CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

## CAPÍTULO I

### COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES VEGETALES CONSUMIDOS EN MÉXICO Y SU APORTE EN LA INGESTA DIARIA RECOMENDADA

**Longoria Sánchez, A.<sup>1</sup>; Valdez Morales, M.<sup>2</sup>; Medina Godoy, S.<sup>1</sup> y Espinosa Alonso, L.G.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa. Dpto. Biotecnología Agrícola. Laboratorio de Alimentos Funcionales. Guasave, Sinaloa. C.P.81101. <sup>2</sup> CONACyT-Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa. Dpto. Biotecnología Agrícola. Laboratorio de Metabolómica. Guasave, Sinaloa. C.P.81101 (01 687 872 9626 ext. 87660)

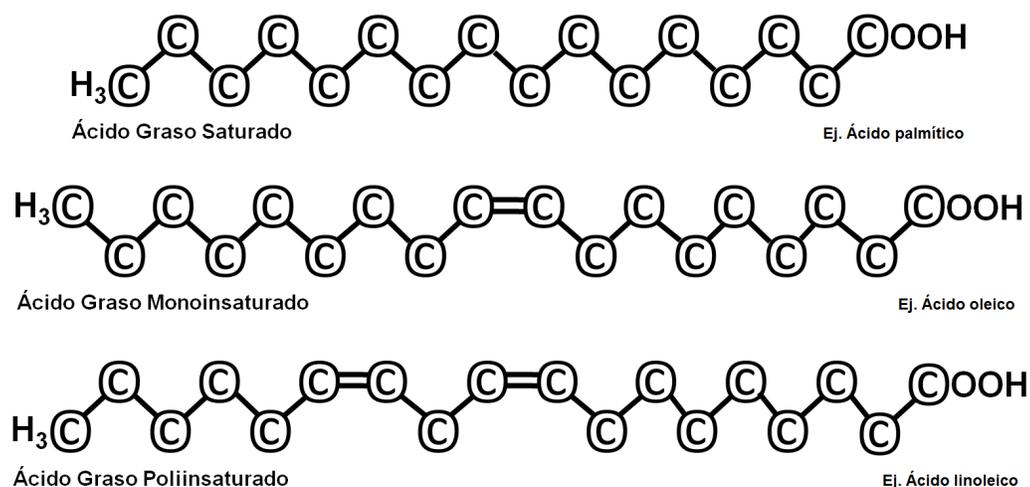
\* autor de correspondencia: [lespinosaa@ipn.mx](mailto:lespinosaa@ipn.mx)

**Palabras clave:** aceite vegetal, ácidos grasos, ingesta diaria recomendada, poliinsaturados, salud.

#### INTRODUCCIÓN

Los principales suministros de energía que proporcionan sustancias que regulan diferentes procesos fisiológicos o metabólicos en nuestro organismo son las grasas ó lípidos. El tejido adiposo, en el cual se distribuye la mayor parte de las grasas del cuerpo, sirve como depósito de energía, conservador del calor y amortiguador; de igual manera la grasa también se encarga del transporte de las vitaminas liposolubles (Akoh y Min, 2002; Orsavova *et al.*, 2015).

Los lípidos celulares están compuestos por ácidos grasos (AG); los cuales pueden ser diferenciados por el número de carbonos e insaturaciones en su cadena (enlace doble). Los ácidos grasos saturados (AGS) no cuentan con insaturaciones en su cadena, los monoinsaturados (AGMI) sólo cuentan con un doble enlace y finalmente los poliinsaturados (AGPI) pueden llegar a tener entre 2 a 6 insaturaciones en su cadena hidrocarbonada (figura 1) (Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, 2011). Existen dos sistemas de nomenclatura para identificar a los ácidos grasos; ambas proporcionan información sobre el grado y posición de las insaturaciones y surgieron para diferenciar a los ácidos grasos desde múltiples perspectivas de estudio. Un sistema designa a los dobles enlaces desde el extremo carboxilo del ácido graso (C) y el en el otro se ve desde el extremo metilo del ácido graso (n); así un doble enlace entre los carbonos noveno y décimo de un ácido graso de 16 carbonos tiene un enlace C-9 o bien, un doble enlace n-7. Habitualmente, se utiliza el sistema de (n) cuando los ácidos grasos se discuten con respecto a la nutrición, de ésta nomenclatura surge la clasificación de los ácidos grasos omega donde los enlaces n-3, n-6 y n-9 son los más representativos (Akoh y Min, 2002).



**Figura 1. Estructura de los ácidos grasos celulares.**

El ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1) y ácido linoleico (C18:2) (Figura 1) son los ácidos grasos dominantes en los aceites vegetales y muchos aceites y grasas se diferencian sólo en la proporción relativa de estos tres ácidos; cada uno de éstos representa a los ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados, respectivamente. Sin embargo, existen otros ácidos grasos dentro de cada grupo y pueden ser importantes para la salud (Akoh y Min, 2002).

Las capacidades para metabolizar los ácidos grasos en plantas y animales son muy diferentes; las plantas cuentan con enzimas específicas que les permiten insertar enlaces dobles en los C-12 y C-15 de ácidos grasos, los animales superiores al no contar con dichas enzimas son incapaces de sintetizar todos los ácidos grasos requeridos para ciertas funciones de tejidos y necesitan ingerir los ácidos grasos sintetizados por las plantas (Tocher, 2015). Dichos ácidos grasos provenientes de las plantas proporcionan una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados en la nutrición humana; donde los ácidos grasos esenciales (AGE) tienen un papel importante de acuerdo a su concentración y distribución en las dietas, no sólo al aportar el mayor valor energético de interés nutricional, sino al reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Tocher, 2015).

### **Función de las grasas y aceites en la alimentación**

Las grasas son energéticamente densas al aportar más del doble de calorías (37 kJ o 9 cal por gramo) en comparación con otras fuentes de energía como hidratos de carbono y proteínas (4 cal por gramo); sin embargo, su efecto sobre la salud va más allá de su papel como fuentes de energía. En los últimos años los ácidos grasos han sido investigados, generando conocimiento sobre sus funciones en la salud y el bienestar nutricional (FAO/OMS, 2003). Se ha reportado que sirven como vehículo para la absorción de las vitaminas A, D, E y K; además de que contribuyen con el sabor y aroma de los alimentos y son las principales responsables de la sensación de saciedad al retardar el vaciado gástrico y la motilidad intestinal (Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, 2011).

En la dieta, las grasas comprenden todos los lípidos que se encuentran en tejidos animales y vegetales, de igual manera los frutos secos, cereales y legumbres son fuente de grasas aunque en menor proporción. Las grasas (sólidas) o aceites (líquidos) más comunes son los glicerolípidos, los

cuales se componen fundamentalmente de triglicéridos. Los ácidos grasos constituyen los principales componentes de estos lípidos y son necesarios en la nutrición humana como fuente de energía y para cumplir con funciones de carácter metabólico y estructural (Tocher, 2015).

En los últimos años, los ácidos grasos esenciales han adquirido un papel importantísimo en la alimentación, catalogándolos como alimentos funcionales y nutraceuticos (Akoh y Min, 2002). Hay alrededor de 20 ácidos grasos insaturados de importancia nutricional para los seres humanos. Prácticamente la totalidad de los ácidos grasos insaturados que se consumen en dietas normales son miembros de las familias n-3, n-6, n-7, o n-9.

La ingestión o el metabolismo particular para cada ácido graso saturado o insaturado es necesaria para una gran variedad de funciones fisiológicas y celulares, provocando que la ingesta inadecuada de alguno de éstos provoque diversas disfunciones en diferentes localizaciones celulares (Akoh y Min, 2002). La función específica para cada tipo de ácido graso en los procesos metabólicos crea la necesidad de mejorar los requerimientos y recomendaciones de su ingesta diaria, y así poder enfocar las funciones específicas de los ácidos grasos individuales independientemente del grupo químico al que pertenezcan (AGS, AGMI y AGPI) (FAO/OMS, 2010).

### **Recomendaciones de consumo de ácidos grasos**

El balance energético es un factor importante para mantener un peso corporal saludable. La ingesta de grandes cantidades de energía sin esfuerzo físico adecuado conduce a la obesidad y enfermedades coronarias; pero de igual manera un consumo inadecuado de nutrientes conlleva a un mal funcionamiento del organismo. Para poder abordar el problema de las deficiencias clínicas agudas o subagudas de vitaminas, minerales, proteínas y energía (calorías) fue necesario crear patrones de referencia de valores nutricionales. Los niveles de Ingesta Diaria Recomendada (IDR) especifican los porcentajes recomendados para diversos perfiles nutricionales tanto en edades, sexo, culturas o países (FAO/OMS, 2011); y se ha extendido su uso para incluir otros componentes de los alimentos, como las grasas y los ácidos grasos (FAO/OMS, 2010).

La recomendación nutricional de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que el rango aceptable de distribución de macronutrientes (AMDR) para la ingesta de grasa total oscila entre el 20% y 35% de energía (*E*), pero esta ingesta debe ser superior al 15% *E* (L-AMDR) para asegurar la ingesta de ácidos grasos esenciales y de energía para facilitar la absorción de las vitaminas liposolubles. Referente a los ácidos grasos saturados, éstos tienen un nivel máximo de 10% *E* (U-AMDR). Para estimar la ingesta diaria recomendada de ácidos grasos poliinsaturados, es posible tener un consumo total (6%-11% *E*) o bien, separar el tipo de ácido en omega 6 (n-6) u omega 3 (n-3) donde los intervalos aceptables de distribución de macronutrientes oscilan entre 2.5% a 9% *E* en omega 6 y de 0.5% a 2% *E* en omega 3.

Es importante considerar que los requerimientos nutricionales expresados en la tabla 1, sólo pueden considerarse si se mantiene un balance energético en la dieta diaria, por lo cual sirve como un patrón de referencia para adaptar las necesidades nutricionales específicas para cada individuo, ya que el porcentaje de grasas, carbohidratos y proteínas varía por factores como la edad, el sexo, la actividad física y la tendencia a presentar enfermedades coronarias.

**Tabla 1. Ingesta dietética recomendada de grasa total y de ácidos grasos en adultos.**

<i>Ácido Graso</i>	<i>Medida</i>	<i>Cantidad</i>
<i>Grasa total</i>	AMDR	20-35% <i>E</i>
	U-AMDR	35% <i>E</i>
	L-AMDR	15% <i>E</i>
<i>Ácidos grasos saturados (AGS)</i>	U-AMDR	10% <i>E</i>
<i>Ácidos grasos monoinsaturados (AGMI)</i>	AMDR	Por diferencia <sup>a,b</sup>
<i>Ácidos grasos poliinsaturados totales (AGPI)</i>	AMDR (LA+LNA+EPA+DHA)	6-11% <i>E</i>
	U-AMDR	11% <i>E</i>
	L-AMDR	6% <i>E</i>
	AI	2.5-3.5% <i>E</i>
<i>AGPI n-6</i>	AMDR (LA)	2.5-9% <i>E</i>
	EAR	2% <i>E</i> (SD de 0.5%)
	AI	2-3%
<i>AGPI n-3</i>	AMDR (n-3c)	0.5-2%
	L-AMDR (ALA)	>0.5% <i>E</i>
	AMDR (EPA+DHA)	0.250-2* g/d

<sup>a</sup> Grasa total [% *E*] – ([% *E*] - AGS [% *E*] + AGPI [% *E*]).

<sup>b</sup> Puede ser hasta el 15-20% *E*

Abreviaturas: % *E*: porcentaje de energía, AI: ingesta adecuada, EAR: requerimiento medio estimado, AMDR: intervalo aceptable de distribución de macronutrientes, L-AMDR: nivel mínimo de intervalo aceptable de distribución de macronutrientes, U-AMDR: nivel máximo de intervalo aceptable de distribución de macronutrientes.

Fuente: Elaboración propia con base en información de FAO/OMS.

### **Aceites vegetales consumidos en México**

Los aceites vegetales se obtienen de diferentes partes de una planta, como sus frutos o sus semillas y son utilizados principalmente en la cocina. Durante los últimos años, ha habido un crecimiento sustancial en la producción y el consumo de aceites vegetales, lo cual generó atención sobre los posibles efectos que puede causar su consumo en la salud (Savva y Kafatos, 2016). Estos aceites son fuentes de todos los grupos de ácidos grasos (saturados, monoinsaturados y poliinsaturados). Sin embargo, su composición varía de acuerdo a la planta de origen, así como de la tecnología de proceso durante su producción (Savva y Kafatos, 2016). Las principales semillas oleaginosas que se procesan en México son la semilla de soya, canola, cártamo y girasol (Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, 2011). En México se consume una importante cantidad de aceites vegetales, éste asciende a  $1.1 \times 10^9$  litros anuales; es decir, cada mexicano consume 10 litros de aceite al año, de los cuales el 78% del consumo de aceite vegetal comestible (mixto) y 22% es puro (Asociación Nacional de Industriales de Aceites y Mantecas Comestibles, 2009).

El alto consumo de aceites vegetales en México, así como las costumbres en el consumo de aceites de fuentes de origen determinadas, que posee una composición de ácidos grasos característica, ocasiona el riesgo de generar desequilibrio en la ingesta dietética recomendada para cada grupo de

ácidos grasos, lo que puede originar y desencadenar enfermedades cardiovasculares graves. De tal manera que el objetivo de este trabajo fue analizar y evaluar los aspectos nutricionales de los principales aceites vegetales de consumo en México, a partir del aporte energético de la composición de sus ácidos grasos saturados e insaturados de acuerdo a la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) para grasas.

## **METODOLOGÍA**

A partir de los últimos datos estadísticos de encuestas realizadas en 2010 por la Procuraduría Federal del Consumidor, se seleccionaron los aceites mayormente preferidos y consumidos en México. Así mismo, se obtuvieron las monografías para cada uno de los aceites seleccionados a partir de las Normas Mexicanas del Diario Oficial de la Federación (<http://www.dof.gob.mx/>), a partir de las cuales se colectaron los datos de la composición de los diferentes grupos de ácidos grasos.

Se realizó una evaluación del aporte diario recomendado de los seis principales aceites vegetales más consumidos en México, analizando los datos extraídos de las tablas de especificaciones de composición de ácidos grasos de: soya (NMX-F-252-SCFI-2011), canola (NMX-F-475-SCFI-2005), oliva (NMX-F-109-SCFI-2014), maíz (NMX-F-030-SCFI-2011), cártamo (NMX-F-161-SCFI-2013) y girasol (NMX-F-265-SCFI-2011).

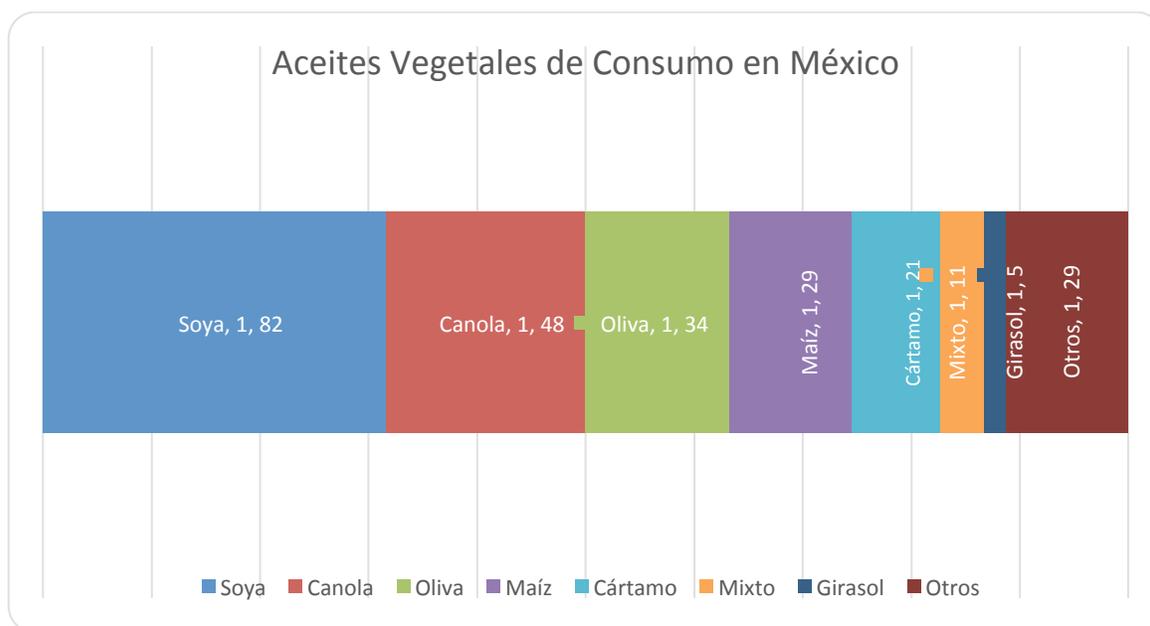
El aporte energético de los diferentes tipos de ácidos grasos de los aceites vegetales se calculó a partir de la composición química de cada uno de los aceites vegetales evaluados. Se agruparon los ácidos grasos de acuerdo a su grupo estructural, como ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI), en estos últimos destacando los ácidos grasos de la familia n-3 y n-6. Y se determinó su valor energético (kJ/g) de acuerdo a su contenido total y empleando el factor de conversión de 9kcal (37.7 KJ/g), que equivale a la cantidad de energía que es liberada cuando estos macronutrientes se oxidan metabólicamente.

Para poder evaluar los aspectos nutricionales como aporte energético (Ingesta Diaria Recomendada) de sus AGS y AGPI, se tomaron los valores energéticos ( $E$ ) y se convirtieron en porcentaje de Ingesta Diaria Recomendada para grasas para los diferentes ácidos grasos basado en los valores máximos permisibles de acuerdo a la FAO donde para AGS—10% IDR, AGPI—11% IDR, AGPI<sub>n-3</sub>—2% y AGPI<sub>n-6</sub>—9% (tabla 1).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Preferencias en el consumo de aceites vegetales de la población mexicana**

En 2010, la Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO), mediante un sondeo en línea, identificó los aceites vegetales de mayor consumo, destacando los aceites elaborados a partir de soya, canola, oliva, maíz, cártamo y girasol (figura 2). Así mismo, los principales criterios para seleccionar el tipo de aceite preferido fueron: 1) porque lo consideran sano, 2) barato, 3) costumbre y 4) sabor; y los motivos que llevan al consumidor a cambiar de aceite son: 1) precio, 2) dudas sobre su beneficio para la salud y 3) por probar otra marca ([revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf](http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf)).



**Figura 2. Principales aceites vegetales consumidos en México.**

Fuente: Elaboración propia con base en información de PROFECO.

En el mercado mexicano existe una relación entre el número de aceites vegetales mixtos con el de aceites vegetales puros, es decir, por cada aceite mixto se encuentra un aceite puro. Los aceites vegetales mixtos son más económicos con un promedio de costo de \$18.60 pesos por litro en 2010, pero aún así su consumo sólo supera al aceite de girasol puro ([revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf](http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf)).

A continuación se describen los datos económicos de los aceites vegetales consumidos en México hasta el 2010. En cuanto a los aceites vegetales puros, el de soya es el de mayor consumo en México. Este aceite se obtiene a partir de la semilla de soya, y es el de mayor producción en el mundo al ser un aceite poliinsaturado con contenido de ácido linoleico (omega 6) y ácido linoléico (omega 3). En el mercado se registraron aproximadamente 12 marcas con precios que oscilan entre \$14.00 y \$32.00 pesos por litro. El aceite de canola proviene de las semillas de la planta de la canola, éste destaca por poseer el menor contenido de ácidos grasos saturados y un contenido alto de ácidos grasos monoinsaturados, por lo que su consumo es altamente recomendable, lo cual se ve reflejado al ser el segundo aceite de preferencia de consumo por los mexicanos, de este aceite se encuentran en el mercado alrededor de 8 diferentes opciones a elegir con precios desde \$18.00 a \$24.00 pesos por litro. El aceite de oliva se encuentra en tercer lugar en preferencia, y éste se puede encontrar en el mercado de diferentes presentaciones como aceite extravirgen y virgen otorgadas por el tipo de aceituna, sabor y proceso de elaboración. Los aceites de oliva son muy apreciados porque contienen un alto nivel de ácido monoinsaturado; pero la producción local en estos momentos en México es muy baja llegando a ser casi nula, por lo que la mayor parte del aceite de oliva es importado de España lo cual eleva el precio por litro de aceite. El aceite de maíz tiene apariencia cristalina, un color amarillo rojizo y un sabor muy bien aceptado por el consumidor, en el mercado se cuenta con al menos 9 marcas de aceite puro de maíz con precios desde \$20.00 a \$33.00 pesos por litro. En México solo se cuenta con una marca productora de aceite de cártamo puro, de la variedad monoinsaturada, dicho aceite proviene de una variedad genética natural del cártamo, en la que la composición de

ácidos grasos es diferente a la tradicional porque contiene un alto nivel de ácido monoinsaturado (ácido oleico); el precio de éste aceite en el mercado es de \$40.00 pesos por litro (revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf).

### Composición de ácidos grasos de los aceites vegetales

En la tabla 2 se presenta la composición total de ácidos grasos de aceite de soya, canola, oliva, maíz, cártamo y girasol. Los principales ácidos grasos contenidos en aceite vegetales son: palmítico (C16:0) en un rango de 3.3% a 20.0%; ácido oleico (C18:1) de 14.0% a 83.0% y ácido linoleico (C18:2) de 3.3% a 74.0%.

**Tabla 2. Composición de ácidos grasos de aceites vegetales.**

AG [%]	SOYA		CANOLA		OLIVA		MAÍZ		CÁRTAMO		GIRASOL	
	Mín	Max	Mín	Max	Mín	Max	Mín	Max	Mín	Max	Mín	Max
C12:0	0.0	0.1	Nd	nd	nd	nd	0.0	0.3	nd	nd	0.0	0.1
C14:0	0.0	0.2	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	0.3	0.0	0.2	0.0	0.2
C16:0	9.7	13.3	3.3	6.0	7.5	20.0	8.6	16.5	3.6	6.0	5.0	7.6
C17:0	Nd	nd	Nd	nd	0.0	0.3	nd	nd	nd	nd	Nd	Nd
C18:0	3.0	5.4	1.1	2.5	0.5	5.0	0.0	3.3	1.0	2.4	2.7	6.5
C20:0	0.1	0.6	0.2	0.8	0.0	0.6	0.3	1.0	0.3	0.6	0.2	0.5
C22:0	0.3	0.7	0.0	0.5	0.0	0.2	0.3	0.5	0.0	0.2	0.3	1.5
C24:0	0.0	0.4	0.0	0.2	0.0	0.2	0.0	0.5	0.0	0.2	0.0	0.4
C16:1	0.0	0.2	Nd	nd	0.3	3.5	0.0	0.5	0.0	0.8	0.0	0.3
C17:1	Nd	nd	0.0	0.3	0.0	0.3	nd	nd	nd	nd	Nd	Nd
C18:1	17.7	28.5	52.0	67.0	55.0	83.0	20.0	42.2	70.0	83.7	14.0	39.4
C20:1	0.0	0.3	0.1	3.4	0.0	0.4	0.2	0.6	0.1	0.5	0.0	0.3
C22:1	0.0	0.3	0.0	2.0	nd	nd	0.0	0.3	0.0	0.3	0.0	40.3
C24:1	Nd	nd	0.0	0.4	nd	nd	nd	nd	0.0	0.3	Nd	Nd
C18:2	49.8	57.1	16.0	25.0	3.5	21.0	34.0	65.6	9.0	19.9	48.3	74.0
C18:3	5.5	9.5	6.0	14.0	1.0	1.0	0.0	2.0	0.0	1.2	0.0	0.3
C20:2	0.0	0.1	0.0	0.1	Nd	nd	0.0	0.1	nd	nd	Nd	Nd
C22:2	Nd	nd	0.0	0.1	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	Nd	Nd

Datos expresados como porcentaje total de diferentes grupos de ácidos grasos (AGS, AGMI y AGPI). Estos valores no son representativos para variedades desarrolladas por biotecnología. Abreviaturas: AGS—ácidos grasos saturados, AGMI—ácidos grasos monoinsaturados, AGPI—ácidos grasos poliinsaturados, nd—no determinado.

Fuente: Datos promedio de las normas de calidad de los aceites vegetales puros (<http://www.dof.gob.mx/>).

Cada uno de los aceites vegetales analizados tiene su distribución de ácidos grasos saturados e insaturados específica, dependiendo de la fuente vegetal de obtención. Por lo tanto, su impacto en la salud humana puede ser evaluada de acuerdo a los ácidos grasos individuales que contiene.

### **Ácidos grasos saturados**

Dentro de los ácidos grasos saturados encontrados en los aceites vegetales se encuentran: ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido araquídico (C20:0), ácido behénico (C22:0) y ácido margárico (C24:0). En todos los aceites vegetales analizados estuvieron presentes los ácidos palmítico y esteárico; siendo los de mayor proporción respecto a los otros ácidos grasos saturados con rangos de 3.3% (canola) a 16.5% (maíz) y 0.5% (oliva) a 6.5% (girasol), respectivamente.

Según datos estadísticos de la FAO, los ácidos grasos saturados más abundantes en nuestra dieta son concretamente C14:0, C16:0 y C18:0, excepto en el caso de la leche y del aceite de coco, en los que los ácidos grasos saturados van desde C4:0 a C18:0. Cada uno de los ácidos grasos saturados (AGS) afecta de manera diferente a las concentraciones de colesterol en las diferentes fracciones de las lipoproteínas plasmáticas. Por ejemplo, los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) incrementan el colesterol de las LDL mientras que el ácido esteárico (C18:0) no tiene este efecto (FAO/OMS, 2011).

### **Ácidos grasos monoinsaturados**

En los aceites vegetales analizados predominó el contenido de ácidos grasos insaturados respecto al de ácidos grasos saturados; identificando como monoinsaturados al ácido palmitoléico (C16:1), ácido heptadecenoico (C17:1), ácido oléico (C18:1), ácido eicosenoico (C20:1), ácido erúxico (C22:1) y ácido tetracosadecenoico (C24:1). Los aceites con mayor proporción de ácidos grasos monoinsaturados fueron el de cártamo (70.1%-85.6%), olivo (55.3%-87.2%) y canola (52.1%-73.1%). El ácido oleico fue el ácido graso presente en todos los aceites con rangos de 14% (girasol) a 83.7% (cártamo).

El ácido oleico es el ácido graso insaturado más común y consumido en la dieta occidental, éste es el precursor para la producción de la mayoría de los ácidos grasos poliinsaturados; así las plantas producen a partir de éste los AGPI de las familias n-3 y n-6 (Akoh y Min, 2002). Sin embargo, en algunas poblaciones el ácido graso monoinsaturado más abundante es el ácido erúxico (C22:1n-9), el cual se encuentra en mayor proporción en el aceite de girasol en un 40.3% (FAO/OMS, 2010).

### **Ácidos grasos poliinsaturados**

Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados encontrados en los aceites vegetales se encuentran el ácido linoleico (C18:2n-6), ácido linolénico (C18:3n-3), ácido eicosadienoico (C20:2n-6), ácido docosadienoico (C22:2n-6). Los aceites con mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados fueron el de girasol (48.3%-74.3%), soya (55.3%-66.7%) y maíz (34.0%-67.7%). El ácido linoleico fue el ácido graso presente en todos los aceites con rangos de 3.5% (oliva) a 74.0% (girasol).

Los AGPI se refieren a los aceites poliinsaturados más abundantes en nuestra dieta, que incluyen sobre todo al ácido linoleico (C18:2n-6) y una porción menor de ácido alfa-linolénico (C18:3n-3). También, y dependiendo de la ingesta de animales marinos, se incluye una proporción variable pero relativamente baja de AGPI de cadena larga tales como ácido araquidónico (AA), ácido ecosapentaenoico (EPA), ácido docosapentaenoico (DPA) y ácido docosahexanoico (DHA) (Tocher, 2015). Hay una evidencia convincente de que los ácidos linoleico (LA) y alfa-linolénico (ALA) son esenciales ya que no pueden ser sintetizados por los humanos. Además, de acuerdo a investigaciones

de la FAO, la sustitución de AGS por AGPI disminuye el riesgo de enfermedades coronarias (Akoh y Min, 2002).

### Aporte energético de los diferentes tipos de ácidos grasos de los aceites vegetales

El consumo de lípidos en México es relativamente alto, con la contribución de aproximadamente el 40% de las calorías totales, superando los valores recomendados por la FAO/OMS mencionados anteriormente. En los últimos 20 años México ha mantenido, en promedio, un suministro de energía alimentaria (SEA) equivalente a 3,141 Kcal por persona al día, disponibilidad suficiente para cubrir las necesidades promedio de su población. Sin embargo, hay que resaltar que los niveles de suministro energético superan las necesidades promedio por persona al día, estimadas en 2,357 Kcal para el periodo 2010-2012. (Orsavova *et al.*, 2015). Los cereales, los edulcorantes y los aceites vegetales aportaban la mayor cantidad de energía, seguidos por las leguminosas, los productos de origen animal, las frutas y hortaliza (FAO/OMS, 2003)

En la tabla 3 se muestran los valores energéticos calculados para los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados para 1.0 gramo de los principales aceites vegetales consumidos en México (soya, canola, oliva, maíz, cártamo y girasol).

**Tabla 3. Valores energéticos de los grupos de ácidos grasos para 1g de aceite vegetal.**

<i>E</i> (kJ/g)	SOYA	CANOLA	OLIVA	MAÍZ	CÁRTAMO	GIRASOL
AGS	6.3	2.8	6.4	6.0	2.7	3.9
AGMI	8.7	23.5	26.4	12.2	29.3	14.7
AGPI	22.7	11.5	4.9	19.5	5.7	19.1
(n-3)	2.8	3.8	0.4	0.4	0.2	0.0
(n-6)	19.9	7.7	4.5	19.1	5.4	19.1

Datos expresados como valores energéticos (*E*) en kJ/g de diferentes grupos de ácidos grasos. Abreviaturas: AGS—ácidos grasos saturados, AGMI—ácidos grasos monoinsaturados, AGPI—ácidos grasos poliinsaturados.

Debido a que los aceites analizados están compuestos mayoritariamente por ácidos grasos insaturados (monoinsaturados y poliinsaturados) se puede observar en la tabla 3 que éstos grupos son los que presentan mayor valor energético (*E*); en el caso de los ácidos grasos monoinsaturados los valores estuvieron en rangos de 8.7 kJ/g (soya) y 29.3 kJ/g (cártamo), respecto a los ácidos grasos poliinsaturados los rangos fueron de 4.9 kJ/g (oliva) a 22.7 kJ/g (soya). Los aceites de cártamo, oliva y maíz son los que presentan mayor contenido de ácidos grasos monoinsaturados; y los de soya, maíz y girasol contienen en mayor proporción ácidos grasos poliinsaturados principalmente de la familia n-6. Es importante señalar que los contenidos de ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 se encontraron principalmente en los aceites de canola y soya.

Para poder evaluar los aspectos nutricionales de los aceites vegetales como aporte energético (Ingesta Diaria Recomendada) de sus AGS y AGPI, se tomaron los valores energéticos de la tabla 2 y se

convirtieron a porcentaje de Ingesta Diaria Recomendada para grasas (IDR—37.7 kJ/g) para los diferentes grupos de ácidos grasos, basado en los valores máximos permisibles de acuerdo a la FAO donde para  $IDR_{AGS}$ —10%,  $IDR_{AGPI}$ —11%,  $IDR_{n-3}$ —2% e  $IDR_{n-6}$ —9% (tabla 4).

**Tabla 4. Porcentaje de aporte energético (E) por grupo estructural de ácidos grasos de aceites vegetales consumidos en México.**

<i>E</i> [%IDR]	SOYA	CANOLA	OLIVA	MAÍZ	CÁRTAMO	GIRASOL
AGS	166.7	73.6	168.9	160.3	72.4	103.3
AGPI	546.9	276.5	118.5	469.1	136.6	460.7
(n-3)	369.8	499.5	49.2	50.7	30.0	6.2
(n-6)	586.2	227.0	133.9	562.0	160.3	561.8

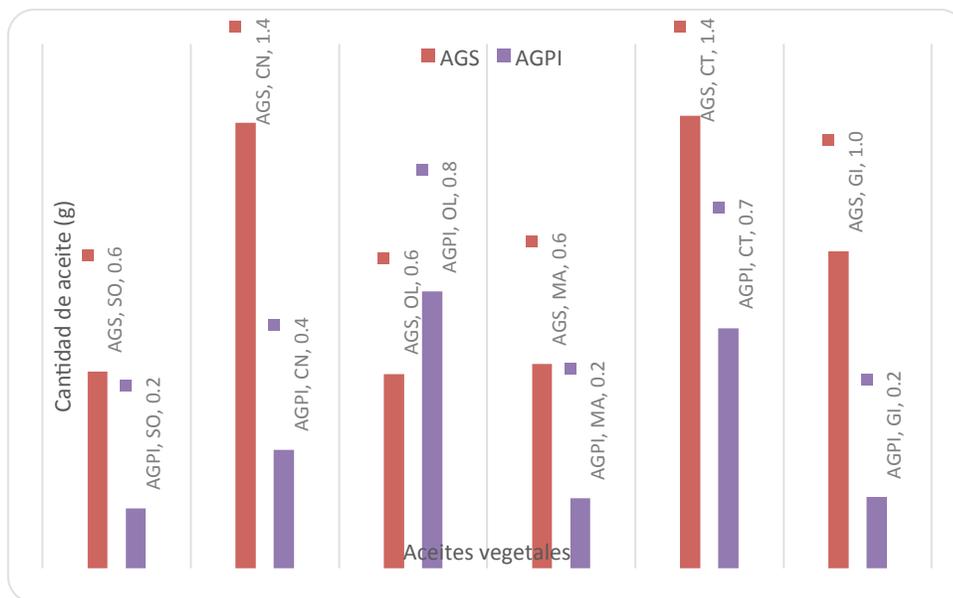
Porcentaje de aporte energético, Datos expresados como porcentaje de aporte energético *E* [%IDR]. Abreviaturas: AGS—ácidos grasos saturados, AGMI—ácidos grasos monoinsaturados, AGPI—ácidos grasos poliinsaturados.

Tomando en consideración el contenido energético de los ácidos grasos en 1.0 gramo de aceite y las recomendaciones máximas de ingesta diaria para cada grupo de ácidos grasos AGS, AGPI, n-3 y n-6 (10%, 11%, 2% y 9%, respectivamente), los porcentajes de aporte energético superan los valores de ingesta diaria recomendada. Un gramo de aceite vegetal contiene AGS que aportan del 72.4% (cártamo) al 168.9% (oliva), de la IDR. Esta se incrementa significativamente para el contenido de AGPI del 118.5% (oliva) al 546.9% (soya). Finalmente, los valores de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6, aportan de 6.2% (girasol) a 499.5% (canola) y 133.9% (oliva) a 586.2% (soya), respectivamente.

Las dosis de los aceites vegetales para el cumplimiento de las ingestas diarias recomendadas de energía para cada grupo de ácidos grasos varían según la composición de éstos dependiendo de la fuente vegetal de la cual fue extraído el aceite. Los equivalentes energéticos de AGS, AGP, n-3 y n-6 correspondientes a 1.0 g de aceite superaron las recomendaciones generales de 10%, 11%, 2% y 9%, respectivamente, de la FAO.

#### **Gramos de aceite necesarios para cubrir los % IDR para AGS y AGPI (n-3 y n-6)**

De acuerdo a los resultados previos, que indican que un gramo de aceite supera en gran cantidad al %IDR establecido para cada grupo estructural de ácido graso, y que existe una gran variación de acuerdo a la composición de cada aceite evaluado, la Figuras 3 muestra las cantidades de aceite expresadas en gramos que se necesitan para cubrir los valores de ingesta diaria recomendada de ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI).



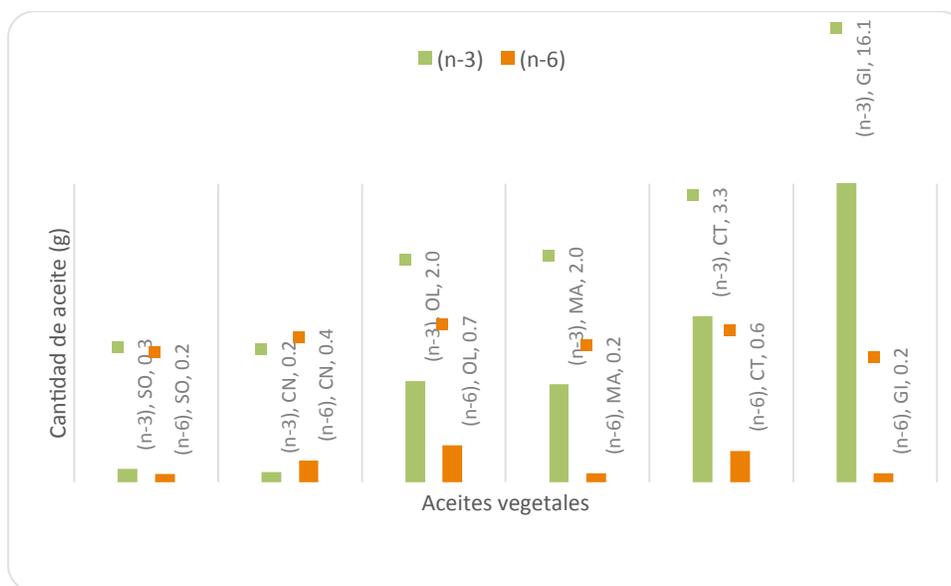
**Figura 3. Cantidad de aceite necesaria para cubrir los valores de ingesta diaria recomendada (IDR) para ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI).** Los datos fueron calculados a partir del valor máximo de ingesta de acuerdo a la FAO. Abreviaturas: SO—soya, CN—canola, OL—oliva, MA—maíz, CT—cártamo y GI—girasol.

Como era de esperarse, las cantidades de aceite de las diferentes fuentes vegetales necesarias para cubrir los valores de IDR de los diferentes grupos de ácidos grasos variaron de acuerdo con la composición específica de los ácidos grasos de cada aceite por su fuente de origen vegetal. Por lo que, los aceites de soya, maíz y girasol al estar compuestos principalmente por ácidos grasos poliinsaturados requieren menores cantidades de aceite (0.2 g) para cubrir los valores de ingesta diaria recomendada. Por el contrario, para poder cubrir los valores recomendados de ácidos grasos saturados es necesario consumir alrededor de 0.6 g de aceite (oliva, maíz y soya) a 1.4 g de aceite (canola, cártamo). En la figura 3 se aprecia que el aceite con mejor balance entre ácidos grasos saturados y poliinsaturados es el de oliva con una diferencia de 0.2 g para balancear los valores de ingesta diaria recomendada para ambos ácidos grasos.

El tipo de grasa consumida en la dieta es más importante que la ingesta total de grasa, como se mencionó anteriormente diferentes tipos de grasas o ácidos grasos pueden desempeñar funciones diferentes u opuestas. El conocer el porcentaje de ácidos grasos específicos ingeridos permite predecir el riesgo de enfermedad coronaria, recomendándose consumir grasas insaturadas en mayor proporción que las saturadas o trans (He, *et al.*, 2003). Recientes estudios sugieren que la sustitución de la ingesta de ácidos grasos saturados por ácidos grasos poliinsaturados en lugar de ácidos grasos monoinsaturados o carbohidratos previene enfermedades del corazón (Jakobsen, *et al.*, 2009).

La Figura 4 muestra las cantidades de aceites vegetal necesario para cubrir los valores IDR para los ácidos grasos poliinsaturados de las familias n-3 y n-6. Se observa que los aceite de soya y canola se requieren en bajas cantidades para cubrir las recomendaciones. Para la familia n-3 los rangos van de 0.3 g a 0.4 g y para la familia n-6 los rangos son de 0.2 g a 0.4 g. Por otra parte, no existe un aceite con

el balance óptimo de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6, se observa que se requiere de 16.1 g, 3.3 g y 2.0 g de aceite de girasol, cártamo y maíz, respectivamente.



**Figura 4. Cantidad de aceite necesaria para cubrir los valores de ingesta diaria recomendada (IDR) para ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) familia n-3 y n-6 calculados a partir del valor máximo de ingesta de acuerdo a la FAO. Abreviaturas: SO—soya, CN—canola, OL—oliva, MA—maíz, CT—cártamo y GI—girasol.**

La composición de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de un humano promedio ha cambiado con los avances en la agricultura; generando desequilibrios en las ingestas de ácidos grasos de las familias n-3 a n-6, lo cual ha afectado negativamente a la fisiología humana por el desarrollo de nuevas patologías debido a este desajuste de ácidos grasos (Field, Willett, Lissner & Colditz, 2007).

Un ácido graso común de la familia n-6 es el ácido linoleico, éste se encuentra en la mayoría de los aceites vegetales y tiene un efecto reductor sobre el colesterol en plasma y un efecto inhibitor sobre la formación del trombo arterial. Los ácidos grasos n-6 no pueden ser sintetizados por los seres humanos y se consideran ácidos grasos esenciales. El ácido linoleico se puede desaturar más y alargar para formar ácido araquidónico, el cual participa en la biosíntesis de eicosanoides. En general este tipo de ácido no es deficiente en la dieta, aunque su deficiencia provoca alteraciones en el crecimiento o la reproducción y mala cicatrización de heridas. Sin embargo, la ingesta excesiva de ácidos grasos n-6 se atribuyó como un factor de riesgo importante para desarrollar enfermedades como la aterosclerosis, alergias o ciertas enfermedades neoplásicas (Adam, Wolfram, & Zollner, 2003).

Los ácidos grasos omega-3 (n-3) son también conocidos como ácidos grasos esenciales por lo que se debe obtenerlos a partir de las dietas. El ácido linolénico es el más representativo de esta familia y se encuentra comúnmente en los aceites de soya. Otros ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 de interés son el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) al ser lípidos estructurales, éstos comúnmente se encuentran en aceites de pescado. Su déficit en la dieta puede causar trastornos neurológicos y visuales, dermatitis, y retraso del crecimiento. EPA es importante en

la prevención de ataques cardíacos, principalmente debido a su efecto antitrombótico (FAO/OMS, 2010). Además los niveles de ácido grasos omega-3 también se asocian que interactúan con la mala calidad del sueño para moderar efectos cognitivos adversos y el trastorno depresivo mayor (Lotrich, Sears, & McNamara, 2015).

Se busca mantener un equilibrio apropiado de ácidos grasos de las familias n-3 y n-6 en la dieta. Las altas concentraciones de ácido linoleico pueden conducir a un aumento de la producción de eicosanoides inmunosupresores. Sin embargo, las dietas altas en ácido eicosapentaenoico inhiben la producción de eicosanoides y reducen la inflamación mediante el aumento de la producción de tromboxanos involucrados en procesos de coagulación y agregación plaquetaria (Akoh & Min, 2002). Si quisieramos cubrir los requerimientos necesarios para los ácidos grasos de las familias n-3 y n-6 con un sólo tipo de aceite vegetal, notaríamos que la ingesta recomendada de ácidos grasos n-3 aumenta con la ingesta de los ácidos grasos n-6. Por lo que es importante moderar el consumo de aceites altos en ácido linoleico y aumentar el consumo de aceites con ácido linolénico. El uso de más de una fuente de aceite vegetal permitiría agregar variedad de estos ácidos grasos esenciales en la dieta (Uluata & Özdemir, 2012).

A pesar de contar con evidencia de que las poblaciones se beneficiarían al aumentar la ingesta de ácidos grasos, es poco probable que se pueda generar un cambio tan drástico en la dieta, al menos no en un futuro cercano. La razón principal de esto es el éxito de los cultivos agrícolas ricos en ácidos grasos n-6, que además de consumirse en aceites vegetales también son materia prima para desarrollar otros alimentos como aderezos, helados, mayonesas e incluso para alimentar al ganado que consumimos (Akoh & Min, 2002). Los valores energéticos fueron calculados a partir del factor de conversión de 9cal (37.7 KJ/g), por lo que los datos pueden ser ajustados para cubrir los porcentajes de aporte energético para dietas con diferente número de calorías totales y proporción de grasas en la misma. Los valores calculados sirven de referencia y son ilustrativos, ya que el consumo total de grasas no recae totalmente sólo en el consumo de aceites vegetales, de hecho, una porción de 14 g de aceite vegetal es la cantidad promedio que se debe de consumir en un día y aunque estos aceites demuestran contener ácidos grasos benéficos dentro de la dieta, son solamente un ingrediente más de la misma (SAGARPA, 2012).

## **CONCLUSIONES**

Es evidente que en los últimos años se ha producido un incremento global en el abastecimiento y consumo de grasa total reflejándose en altos índices de obesidad alrededor del mundo y en México principalmente. Aún así, el consumo de grasa no sólo debería centrarse en la ingesta elevada de la misma, sino que también se debe promover que las dietas proporcionen la grasa suficiente para alcanzar los requerimientos de energía y ácidos grasos esenciales necesarios. El tipo de grasa consumida es importante para determinar si ésta es benéfica para la salud o no. La información nutrimental de las etiquetas de alimentos mejoraría si se detalla la composición de ácidos grasos específicos.

Los aceites vegetales representan una fuente natural de grasa para incorporar a la dieta, éstos varían en composición de ácidos grasos, lo cual les brinda propiedades físicoquímicas y nutricionales específicas para que el consumidor seleccione aquellos que mejor se adapten a sus necesidades y preferencias. La mayoría de los aceites vegetales consumidos en México se caracterizan por contener

ácidos grasos poliinsaturados en cantidades especialmente altas de la familia n-6, dando como resultado que las dosis necesarias para cubrir los valores energéticos recomendados sean relativamente bajas. Para cubrir las dosis recomendadas y lograr un equilibrio en la ingesta de ácidos grasos es necesario balancear el consumo de los diferentes aceites para administrar el aporte de ácidos grasos poliinsaturados específicos; y así promover el balance de lípidos en sangre y evitar riesgos de enfermedades crónico degenerativas.

El mantenimiento de patrones dietéticos y niveles energéticos apropiados, así como la realización de una actividad física adecuada en relación a las características antropométricas y los estilos de vida ayudan a conseguir una salud óptima y poder prevenir aumentos de peso corporal no saludables.

## REFERENCIAS

- Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria (2011). Situación actual y perspectivas del consumo de grasas y aceites en México. Mesa de trabajo. Subdirección de Nutrición. Dirección de Estrategias y Desarrollo de Entornos Saludables 9/11/11.
- Asociación Nacional de Industriales de Aceites y Mantecas Comestibles (2009). Revisión de la función dietética de las grasas saturadas. Vol. 13. No. 66. (Octubre-Diciembre 2009). Pág 19-23.
- Adam, O., Wolfram, G. & Zollner, N. (2003). Influence of dietary linoleic acid intake with different fat intakes on arachidonic acid concentrations in plasma and platelet lipids and eicosanoid biosynthesis in female volunteers. *Ann. Nutr. Metab.*, 47(1): 31-36.
- Akoh, C.C., & Min, D.B. (2002). Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. Segunda Edición. Marcel Dekker, Inc. New York. Pág.561-575.
- Bourgues, H., Casanueva, E. y Rosado, J.L. (2004) Recomendaciones de Ingestión de Nutrientes para la Población Mexicana. Tomo 2. México: Ed. Médica Panamericana.
- Diario Oficial de la Federación. Norma Mexicana. Alimentos. Aceite Comestible Puro de Soya (NMX-F-252-SCFI-2011); Aceite Comestible Puro de Canola (NMX-F-475-SCFI-2005); Aceite Comestible Puro de Oliva (NMX-F-109-SCFI-2014), Aceite Comestible Puro de Maíz (NMX-F-030-SCFI-2011); Aceite Comestible Puro de Cártamo (NMX-F-161-SCFI-2013) y Aceite Comestible Puro de Girasol (NMX-F-265-SCFI-2011). (<http://www.dof.gob.mx/>)
- FAO/OMS. (2003). Perfiles Nutricionales por Países – MÉXICO. Agosto 2003 FAO, Rome, Italy.
- FAO/OMS. (2010). Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. Food and nutrition paper 91. Geneva.
- FAO/OMS. (2011). Human energy requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation Rome, 17–24 October 2001.

- Field, A. E., Willett, W.C., Lissner, L. & Colditz G.A. (2007). Dietary fat and weight gain among women in the Nurses' Health Study. *Obesity* (Silver Spring, Md.). Vol. 15 No. 4 April 967-976.
- He, K., Merchant, A., Rimm, E.B., Rosner, B.A., Stampfer, M.J., Willett, W.C. & Ascherio, A. (2003). Dietary fat intake and risk of stroke in male US healthcare professionals: 14 year prospective cohort study. *Br. Med. J.*, 327(7418): 777-782.
- Jakobsen, M.U., O'Reilly, E.J., Heitmann, B.L., Pereira, M.A., Bälter, K., Fraser, G.E., Goldbourt, U., Hallmans, G., Knekt, P., Liu, S., Pietinen, P., Spiegelman, D., Stevens, J., Virtamo, J., Willett, W.C. & Ascherio, A. (2009). Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 89: 1425-1432.
- Lotrich, F.E., Sears, B. & McNamara, R. K. (2015). Polyunsaturated fatty acids moderate the effect of poor sleep on depression risk. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)*.
- Orsavova, J., Misurcova, L., Ambrozova, J.V., Vicha, R. & Mlcek, J. (2015). Fatty acid composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids. *International Journal of Molecular Sciences*. Int. J. Mol. Sci. 2015, 16, 12871-12890.
- Revista del Consumidor. (2010). Estudio de calidad: aceites vegetales comestibles. Boletín No.133 (4 de octubre 2010). Pág. 36-48. [revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf](http://revistadelconsumidor.gob.mx/wp-content/uploads/2010/10/aceites.pdf)
- SAGARPA (2012). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en México 2012.
- Savva S.C. & Kafatos A. (2016). Vegetable Oils: Dietary Importance, In *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press, Oxford, 2016, Pages 365-372, ISBN 9780123849533.
- Tocher, D.R. (2015). Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. *Aquaculture*, Volume 449, 1 December 2015, Pages 94-107, ISSN 0044-8486.
- Uluata, S. & Özdemir, N. (2012). Antioxidant activities and oxidative stabilities of some unconventional oil seeds. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*. 89:551-559.

## CAPÍTULO II

# CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE CINCO PLANTAS MEDICINALES DEL SUR DE SONORA

**Pérez Morales, I.I.; Sarabia Meza, M.; Campas Baypoli, O.N.; López Cervantes, J. y Rodríguez Ramírez, R.**

Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora  
5 de Febrero 818 Sur C.P. 85000 Colonia Centro, Cd. Obregón, Sonora.  
E-mail: olga.campas@itson.edu.mx

**Palabras clave:** capacidad antioxidante, polifenoles, flavonoides

### INTRODUCCIÓN

La medicina natural ha sido utilizada para el tratamiento de numerosas enfermedades en el transcurso de toda la historia de la humanidad. Desde la antigüedad se conocen los efectos beneficiosos de numerosas plantas sobre la salud humana, muchas de las cuales han sido utilizadas para curar y prevenir diversas enfermedades. De forma general, el uso de plantas para tratar enfermedades se remonta a más de 3,000 años en el continente asiático, aunque fueron los occidentales, como los griegos y romanos, los que sistematizaron a través de sus escritos, el estudio de las plantas medicinales (Romo, 2006).

El estudio de las plantas medicinales, ya sea como materia prima para la producción de extractos o como fuente de aislamiento de sustancias naturales puras, representa un área en franca expansión. En los países industrializados dichos productos constituyen cerca del 25 % del total de las prescripciones médicas, mientras que en los que se encuentran en vías de desarrollo abarcan prácticamente el 80 % de la terapéutica (Llauradó *et al.*, 2011).

En el Estado de Sonora las principales etnias son: los yaquis (yoreme yaqui), mayos (yoreme mayo), seris (conca' ac), guarijíos (makurawe), pimas bajos (obs), kikapúes y pápagos o pimas altos (O'odham). No se sabe con exactitud el porcentaje de la población sonoreense que acude a las plantas medicinales cuando se enferman, o para no enfermarse, pero debe ser bastante alto. La herbolaria como componente de la medicina tradicional sonoreense, forma parte de la concepción cultural que tienen los diferentes grupos étnicos (Johnson *et al.*, 1996).

Las razones para el uso continuado de plantas medicinales son varias, e incluyen la tradición familiar o de la tribu, inaccesibilidad física de médicos y medicinas institucionales, costo elevado de la medicina tradicional y, especialmente, la esperanza de curar enfermedades como el cáncer, que los médicos han considerado incurables o inoperables (Johnson *et al.*, 1996).

Según la OMS, la medicina tradicional comprende las prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas; en animales o minerales; para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades. En países en vías de desarrollo se ha descrito que hasta el 90% de la población usa la medicina tradicional (Oblitas *et*

*al.*, 2011). Las plantas medicinales constituyen una fuente inagotable de sustancias activas, se requieren estudios preclínicos para el conocimiento y efectividad de su empleo (Castaño *et al.*, 2013).

Numerosas sustancias estimuladoras del sistema inmunológico han sido aisladas de plantas y hongos superiores, y abren las puertas para el desarrollo de fármacos novedosos. Se vislumbran, de este modo, como una alternativa eficaz para el tratamiento de diversas afecciones que alteran el normal equilibrio de la respuesta inmune del organismo, e inciden negativamente en el cuadro de salud de la población mundial (Llauradó *et al.*, 2011).

La creciente urbanización y consiguiente alejamiento de las fuentes silvestres de plantas medicinales, ha llevado a un creciente desconocimiento de su presentación natural. A pesar que la mayoría de personas cree poder reconocer una planta medicinal por la forma de sus hojas, su olor u otras características, el reconocimiento específico de una planta solo es posible si se cuenta con sus órganos sexuales, es decir si se cuenta con su flor (Salaverry y Cabrera, 2014).

Aún existe el consumo de plantas medicinales entre los mayores, principalmente en el tratamiento de lesiones menores. Las representaciones sobre las plantas medicinales parecen ancladas en la concepción de seguridad, o sea, son naturales y con pocos efectos colaterales. Su uso es hecho concomitantemente con los medicamentos industrializados, sin atender los riesgos de las interacciones. Es necesaria la educación permanente del equipo de salud y de la enfermería sobre la fitoterapia, aportando el uso seguro y eficaz de las plantas medicinales (Da Silva *et al.*, 2012).

El estudio de los componentes de las plantas medicinales se centra en las sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre el ser humano o los seres vivos en general. Los principios activos de las plantas pueden ser sustancias simples (como alcaloides) o bien mezclas complejas (resinas, aceites esenciales, etc.). Los compuestos más comunes son los azúcares y heterósidos (azúcar más un compuesto sin azúcar), que pueden ser glucósidos, galactósidos, etc. Otros componentes activos de las plantas son los alcaloides, lípidos, gomas, mucílagos, principios amargos, taninos, aceites esenciales, resinas, bálsamos, oleorresinas, ácidos orgánicos, enzimas y vitaminas (Campos, 2012).

Los principios activos son los que definen y sirven para clasificar a estas plantas y el principal criterio para su selección y mejora, el control del rendimiento y calidad de productos del cultivo y procesamiento industrial, así como los que dotan a la planta de sus propiedades y usos terapéuticos (Muñoz, 1987).

Los compuestos fenólicos, formados fundamentalmente por los aminoácidos fenilalanina y tirosina, son un grupo de hidrocarburos con numerosos y diferentes anillos, que carecen de nitrógeno en su estructura. En su mayoría, los compuestos fenólicos fortalecen los vegetales o los protegen de diversas amenazas. En numerosos casos, se han vuelto lo suficientemente necesarios como para que los vegetales lleguen a producirlos en grandes cantidades. Aproximadamente el 40% del carbono que circula por la biosfera lo hace en forma de compuestos fenólicos, que se encuentran con frecuencia en las paredes celulares y vacuolas de las células que los producen. Los principales tipos de compuestos fenólicos son las ligninas, los flavonoides y los compuestos alelopáticos (Murray, 2006).

Los flavonoides engloban miles de moléculas solubles en agua y son típicos de las frutas y hortalizas. Algunos disuaden a los herbívoros y previenen la descomposición bacteriana, como en el caso de los compuestos ácidos de color marrón conocidos como *taninos*, que pueden usarse para preservar las pieles. Muchos flavonoides como el licopeno de los tomates y las procianidinas de las manzanas, uvas y fresas, se utilizan en medicina como agentes antivirales y para contribuir al control y a la prevención

del cáncer y de enfermedades cardiovasculares. También poseen otras funciones, como potenciadores del sabor o aromáticos, como en la pimienta negra, el clavo, el jengibre, la vainilla, la canela y el sirope de arce (Murray, 2006).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el perfil fitoquímico cuantitativo y la capacidad antioxidante de cinco especies de plantas medicinales nativas de la región Sur de Sonora mediante métodos espectrofotométricos para la confirmación de su potencial terapéutico.

## **METODOLOGÍA**

### **Ubicación del experimento**

El experimento se realizó en el Laboratorio de Compuestos Bioactivos, ubicado en el Centro de Investigaciones e Innovación Biotecnológica Agrícola y Ambiental (CIIBAA), Unidad Centro del Instituto Tecnológico de Sonora, localizado en la calle 6 de abril y Chihuahua. En Ciudad Obregón, Sonora, México.

### **Recolección de las muestras**

Las plantas fueron recolectadas en el Valle del Yaqui, en las cercanías del poblado de Vícam, Sonora, para la recolección de las plantas se contó con el apoyo de una persona de la tribu Yaqui que es experta en la identificación de estas plantas. Las plantas recolectadas (figura 1) fueron cardo amarillo (*Argemone mexicana* L.), bachata [*Ziziphus obtusifolia* (T. & G.) var. *canescens* (Gray) Sues.], músaro [*Lophocereus schottii* (Engelm) Britt. & Rose var. *schottii*], etcho (*Pachycereus pecten-aboriginum*) y chicoria (*Cichorium intybus* L.).



**Figura 1. Plantas medicinales del Sur de Sonora recolectadas para su estudio.**

### Tratamiento de las plantas

Una vez recolectadas las plantas fueron llevadas al laboratorio donde se lavaron para quitar tierra y otras sustancias indeseadas. Después se separaron en distintas partes: chicoria (hojas, raíz y tallo), cardo amarillo (tallo, raíz y hojas), bachata (hojas, raíz y ramas), músaro y etcho (todo el cactus). Cada una de las muestras fue cortada en pequeños trozos y subsecuentemente se secaron a 40°C en horno y se disminuyó el tamaño de partícula de los trozos secos con ayuda de un mortero. Finalmente se molieron en un molino para granos de café. Las muestras en polvo se guardaron en bolsas ziploc®. Se determinó la humedad de las muestras en polvo para expresar los resultados en base seca.

### Obtención de los extractos

A partir de las plantas medicinales secas y en polvo se obtuvieron los extractos ricos en compuestos bioactivos. La extracción se realizó en la oscuridad utilizando como solvente etanol:agua (CFT, DPPH y ABTS) o metanol:agua (flavonoides) en una proporción 80:20. Específicamente se pesaron 100, 200 y 300 mg de muestra con el propósito de asegurar la presencia de los compuestos bioactivos en los extractos, se adicionaron 5 ml de metanol o etanol al 80%, se homogenizaron 30 segundos en vórtex y se mantuvieron 10 min en un baño de sonicación. La mezcla se filtró en papel Whatman No. 41, los extractos se guardaron en viales ámbar protegidos de la luz a 4 °C para la determinación de CFT y

capacidad antioxidante (DPPH). Se utilizaron 100 mg de muestra para realizar los ensayos de ABTS y flavonoides.

### **Determinación de compuestos fenólicos totales**

Para la determinación de compuestos fenólicos totales se empleó el método espectrofotométrico que utiliza el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se tomaron 50 µl de soluciones de estándar de ácido gálico (10-100 µg/ml) o extracto etanólico. Después se añadieron 50 µl de reactivo Folin-Ciocalteu 0.5 N y se dejó reaccionar por 5 minutos. Por último se agregaron 100 µl de solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5 % y se permitió reaccionar por 30 min y se leyó la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro Spectrostar NANO®. En el blanco se sustituyó el estándar por agua ultrapura. Los ensayos se realizaron por triplicado (Ainsworth y Gillespie, 2007).

### **Determinación de la capacidad de captación del DPPH<sup>•</sup> (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)**

La capacidad de captación del radical DPPH se determinó con el método de Brand-Williams *et al.*, (1995), con modificaciones para microplacas (Al-Duais *et al.*, 2009; y Cheng *et al.*, 2006). Específicamente se añadieron a un pozo 160 µl de solución de radical DPPH 120 µM seguido de 40 µl de solución estándar de trolox (10-200 µM) o extracto etanólico; se mezcló y dejó reposar por 30 minutos; el blanco consistió de 200 µl de etanol al 80% y el control de 40 µl de etanol al 80% más 160 µl de radical DPPH 120 µM. La lectura de absorbancia se tomó a 520 nm en un espectrofotómetro Spectrostar NANO®. El porcentaje de inhibición del radical DPPH se calculó con la siguiente fórmula: %I = ((Abs<sub>control</sub> - Abs<sub>muestra</sub>)/Abs<sub>control</sub>)\*100. Los ensayos se realizaron por triplicado.

### **Capacidad de captación del ABTS<sup>•+</sup>**

Para determinar la capacidad de captación del ABTS<sup>•+</sup> se siguió la metodología de Re *et al.*, (1999) con modificaciones para microplacas. La solución del ABTS<sup>•+</sup> se preparó mezclando volúmenes a una porción de 1:0.5 de una solución madre de ABTS (7 mM en agua) con 2,45 mM de persulfato de potasio. Esta mezcla se dejó en reposo durante 16 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Se realizó una dilución para obtener un valor de absorbancia de 0,800 ± 0,020 a 740 nm del ABTS<sup>•+</sup> cada día del análisis. Se agregaron 200 µl del ABTS<sup>•+</sup> y 30 µl de estándar de trolox (5-250 µM) o extracto etanólico. El blanco estaba constituido por 230 µl de etanol al 80 % y el control por 30 µl de etanol al 80 % más 200 µl de ABTS<sup>•+</sup>. Finalmente se midió la absorbancia a 740 nm en un espectrofotómetro Spectrostar NANO®. La captación del ABTS<sup>•+</sup> se calculó mediante el porcentaje de inhibición con la siguiente fórmula: %I = ((Abs<sub>control</sub> - Abs<sub>muestra</sub>)/Abs<sub>control</sub>)\*100. Los ensayos se realizaron por triplicado.

### **Determinación de flavonoides**

Los flavonoides se determinaron de acuerdo a la metodología de Pecal & Pyrzyńska (2014) con modificaciones para microplacas. Específicamente se añadieron a cada pozo 50 µl de solución de AlCl<sub>3</sub> (2%); posteriormente se agregaron 100 µl de solución estándar de quercetina (10-80 µg/ml) o extracto metanólico. Por último se adicionaron 100 µl de agua ultrapura, se agitó y dejó reaccionar durante 10 minutos. El blanco estaba constituido por 250 µl de agua ultrapura. Se leyó la absorbancia a 425 nm en un espectrofotómetro Spectrostar NANO®. Los ensayos se realizaron por triplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los componentes fitoquímicos de extractos etanólicos y metanólicos de las plantas medicinales se determinaron con métodos espectrofotométricos adaptados a microplacas de 96 pozos.

La linealidad de los métodos fue determinada mediante la obtención de una curva de calibración y su coeficiente de determinación. Las ecuaciones obtenidas se emplearon para cuantificar polifenoles totales, capacidad de captación del radical DPPH y ABTS y flavonoides. Los parámetros de linealidad se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1. Curva de calibración de ácido gálico, trolox y quercetina.**

Análisis	Compuesto	Rango	Ecuación	r <sup>2</sup>
Compuestos fenólicos totales (CFT)	Ácido gálico	10-100 µg/ml	y = 0.0094x - 0.0688	0.9987
Capacidad de captación del radical DPPH*	Trolox	10-200 µM	y = 0.3062x + 4.0722	0.9968
Capacidad de captación del radical ABTS**	Trolox	5-250 µM	y = 0.2818x + 2.7677	0.9991
Flavonoides totales	Quercetina	10-80 µg/ml	y = 0.0212x - 0.056	0.9965

Las cinco plantas estudiadas mostraron capacidad antioxidante en todas sus partes. El músaro, y las ramas y hojas de bachata sobresalieron en la composición de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. Los flavonoides fueron detectados y cuantificados en hojas y ramas de bachata y en tallo y raíz de cardo, las hojas de bachata mostraron el mayor contenido de estos compuestos. En general las hojas de bachata presentaron la mayor cantidad de compuestos fenólicos totales (52.98 mg EAG/g BS), capacidad antioxidante [379.90 mmol ET/g BS (DPPH) y 290.94 mmol ET/g BS (ABTS)] y flavonoides (6.09 mg de flavonoides equivalentes a quercetina/g BS).

El contenido de compuestos fenólicos totales mostró un rango entre 1.83 y 10.23 mg EAG/g BS para las distintas partes de cardo (*Argemone mexicana* L.) encontrándose la mayor cantidad en las hojas. Srivastava *et al.* (2012), obtuvieron valores en extractos acuosos de compuestos fenólicos totales de 7.5 y 2.5 mg/g de equivalente de n-propil galato en hojas y tallos de cardo, respectivamente. Las hojas de cardo también mostraron una mayor capacidad antioxidante con respecto al tallo y a la raíz del mismo, que presentaron valores similares entre ellos.

No se detectaron flavonoides en hojas de cardo y se encontraron valores muy similares alrededor de 1.3 mg de flavonoides equivalentes a quercetina/g BS en tallo y raíz de cardo. Srivastava *et al.* (2012) detectó flavonoides en tallos y hojas de cardo en extractos acuosos con valores de 0.5 y 1.37 mg/g equivalentes de quercetina, respectivamente.

El mayor contenido de compuestos fenólicos totales de bachata [*Ziziphus obtusifolia* (T. & G.) var. *canescens* (Gray) Sues)] se encontró en las hojas con un valor de 52.98 mg EAG/g BS que representa el doble de estos compuestos con respecto a las ramas y el triple con respecto a la raíz. Las hojas de bachata también mostraron una mayor capacidad antioxidante en comparación con las ramas y raíz de la misma. Además se detectó la presencia de flavonoides en hojas y ramas de bachata, siendo las hojas las que mostraron mayor contenido de estos compuestos (tabla 2).

No se han efectuado estudios de *Ziziphus obtusifolia* relacionados con los realizados en esta investigación pero Kone *et al.* (2012) obtuvieron 52.2 mg de EAG/g BS en hojas y 19.3 mg de EAG/g BS en raíces de geba (*Ziziphus mucronata*) en extractos de metanol-agua (80:20) mediante ultrasonido asistido y sonicación.

En la tabla 2 se observan los resultados de compuestos fenólicos totales (4.89 mg EAG/g BS), capacidad antioxidante (45.13 mmol ET/g BS para DPPH y 28.98 mmol ET/g BS para ABTS) para etcho (*Pachycereus pecten-aboriginum*). No se detectó la presencia de flavonoides.

No se han encontrado estudios de *Pachycereus pecten-aboriginum* ni del género *Pachycereus* relacionados con los realizados en esta investigación; sin embargo, Ramírez *et al.* (2011) obtuvieron resultados de compuestos fenólicos de pulpa de nopal de tuna blanca (*Opuntia albicarpa*) y nopal (*Opuntia ficus-indica*) que pertenecen a la misma familia que la planta en estudio, con valores de 2.94 y 3.18 mg de EAG/g BS en extractos de metanol-agua.

No se detectó la presencia de flavonoides en músaro [*Lophocereus schottii* (Engelm) Britt. & Rose var. *schottii*]. Por otra parte en el resto de los análisis se obtuvieron 39.42 mg EAG/g BS de compuestos fenólicos totales. La capacidad antioxidante fue de 303.89 mmol ET/g BS para DPPH y 156.45 mmol ET/g BS para ABTS (tabla 2). Morales *et al.* (2010) obtuvieron valores de compuestos fenólicos de 73 mg de EAG/g de extracto en extractos metanólicos de músaro.

Algunos constituyentes fitoquímicos evaluados en esta investigación no han sido reportados para estas plantas; sin embargo se han encontrado valores similares de compuestos fenólicos totales y flavonoides en chicoria (Shad *et al.*, 2013) cardo (Srivastava *et al.*, 2012), bachata (Kone *et al.*, 2012). Las diferentes técnicas de medida y las diferencias de los métodos de extracción de los constituyentes antioxidantes pueden hacer que las mediciones de estos compuestos en plantas sean muy variables entre autores (Pokorny *et al.*, 2001).

**Tabla 2. Composición fotoquímica de plantas medicinales del Sur de Sonora**

Planta medicinal	CFT (mg EAG/g BS)	Capacidad antioxidante		Flavonoides (mg de flavonoides equivalentes a quercetina/g BS)
		DPPH (mmol ET/g BS)	ABTS (mmol ET/g BS)	
Chicoria (Hojas)	11.47 ± 1.01	88.96 ± 2.01	57.94 ± 0.71	No Detectado
Chicoria (Tallo)	2.04 ± 0.21	20.43 ± 3.26	14.94 ± 1.30	No Detectado
Chicoria (Raíz)	1.62 ± 0.44	26.12 ± 2.21	11.76 ± 0.27	No Detectado
Cardo (Hojas)	10.23 ± 0.13	68.91 ± 0.86	41.14 ± 0.53	No Detectado
Cardo (Tallo)	2.85 ± 0.41	28.21 ± 1.74	14.79 ± 0.36	1.36 ± 0.05
Cardo (Raíz)	1.83 ± 0.20	25.70 ± 3.28	10.42 ± 2.41	1.31 ± 0.04
Bachata (Hojas)	<b>52.98 ± 2.22</b>	<b>379.90 ± 1.70</b>	<b>290.94 ± 3.09</b>	6.09 ± 0.22
Bachata (Ramas)	<b>26.12 ± 0.42</b>	<b>200.03 ± 2.36</b>	<b>183.26 ± 1.04</b>	2.35 ± 0.04
Bachata (Raíz)	15.13 ± 0.42	66.57 ± 0.77	60.96 ± 2.04	No Detectado
Etcho	4.89 ± 0.41	45.13 ± 1.50	28.98 ± 1.26	No Detectado
Músaro	<b>39.42 ± 1.13</b>	<b>303.89 ± 2.73</b>	<b>156.45 ± 12.39</b>	No Detectado

### CONCLUSIONES

Las cinco plantas estudiadas mostraron capacidad antioxidante en todas sus partes. El músaro, y las ramas y hojas de bachata sobresalieron en la composición de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante. Los flavonoides fueron detectados y cuantificados en hojas y ramas de bachata y en tallo y raíz de cardo. Las hojas de bachata mostraron el mayor contenido de estos compuestos.

### REFERENCIAS

- Ainsworth, E.A. & Gillespie, K.M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols* 2: 875-877.
- Al-Duais, M., Müller, I., Böhm, V. & Jetschke, G. (2009). Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostema digitatum* before and after processing: use of different assays. *Eur Food Res Technol*, 228, 813-821.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens Wiss Technology* 1995; 28:25-30.
- Campos, G.H. (2012). Plantas que curan. Madrid, España: Visión libros.

- Castaño, I., Hernández, A.A., De la Nuez, E. & Veloso, E.G. (2013). Listado de plantas medicinales comunes con actividad diurética. *Mediciego*, 19, 1-9.
- Cheng, Z., Moore, J. & Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7429-7436.
- Da Silva, S.C., Oliveira, G., Dias, R. & Martins, M.R. (2012). Representations and uses of medicinal plants in elderly men. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*, 20, 778-786.
- Johnson, D., Moreno, S.F. & López, R. (1996). Compendio fitoquímico de la medicina tradicional herbolaria de Sonora. Hermosillo, Sonora, México: Universidad de Sonora.
- Kone, D., Diop, B., Diallo, D., Djlani, A. & Dicko, A. (2012). Identification, quantitative determination, and antioxidant properties of polyphenols of some malian medicinal plant parts used in folk medicine. *Université Paul Verlaine-Metz/LCME*, 10, 1-13.
- Llauradó, G., Morris, H.J., Albear, M.J., Castan, L. & Bermúdez, R.C. (2011). Plantas y hongos comestibles en la modulación del sistema inmune. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 30, 511-527.
- Morales, E., Treviño, J.F. & Viveros, E (2010). Free radical scavenging activities of *Lophocereus schottii* (Engelmann). *International Journal of Natural and Engineering Sciences*. 4, 69-72.
- Muñoz, F. (1987). Plantas medicinales y aromáticas. Barcelona, España: Aedos.
- Murray, W. (2006). Introducción a la botánica. Madrid, España: Pearson.
- Oblitas, G., Hernández, G., Chiclla, A., Antich, M., Ccorihuamán, L. & Romaní, F. (2011). Empleo de plantas medicinales en usuarios de dos hospitales referenciales del Cusco, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 30, 64-68.
- Pekal, A. & Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminum complexation reaction for flavonoid content assay. *Springer*, 7, 1776-1782.
- Pokorny, J.; Yanishlieva, N. y Gordon, M. (2001). Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Editorial Acibia. Zaragoza, España.
- Ramírez, E., Hervert, D.H., Sánchez, M.C., Diez, C. & Goni, I. (2011). Intestinal bioaccessibility of polyphenols and antioxidant capacity of pulp and seeds of cactus pear. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62, 839-843.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231-1237.
- Romo, A. (2006). Química de la flora mexicana. Coyoacán, D.F., México.: UNAM Editorial.

Shad, M.A., Nawaz, H., Rehman, T. & Ikram, N. (2013). Determination of some biochemicals, phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Cichorium intybus* L.: a comparative study. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23, 1060-1066.

Salaverry, O. & Cabrera, J. (2014). Florística de algunas plantas medicinales. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 31, 165-168.

Srivastava, N., Chauhan, A.S. & Sharma, B. (2012). Isolation and characterization of some phytochemicals from indian traditional plants. *Biotechnology Research International*, 2012, 1-9.

### **CAPÍTULO III**

## **DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ISOTIOCIANATOS TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE SEMILLAS DE LAS PLANTAS CRUCÍFERAS**

**Angulo Gallegos, O.E.; Campas Baypoli, O.N.; Cantú Soto, E.U.; López Cervantes, J. y Sánchez Machado, D.I.**

Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Cd. Obregón, Sonora. Tel: 64 44 6132 19. [O.maR\\_b@hotmail.com](mailto:O.maR_b@hotmail.com)

**Palabras claves:** capacidad antioxidante, crucíferas, compuestos bioactivos

### **INTRODUCCIÓN**

Los vegetales crucíferos han sido ampliamente aceptados como componentes potenciales en la dieta que pueden reducir el riesgo de padecer cáncer (Lam *et al.*, 2009). Las propiedades bioactivas que presentan algunos vegetales, en particular las del género *Brassica* han sido estudiadas con detenimiento debido a la gran cantidad de enfermedades ocasionadas por el estrés oxidativo de las células como el envejecimiento prematuro, las enfermedades degenerativas y el cáncer. Éstos vegetales contienen en su composición moléculas capaces de proteger a la célula de aquellas moléculas que generan una oxidación en ellas. Las plantas con mayor cantidad de antioxidantes y compuestos bioactivos son el brócoli, el rábano, la col morada, el repollo, coles de bruselas, berro y coliflor, pertenecientes al género *Brassicaceae* (Taiz & Zeiger, 2002). Los radicales libres son típicamente relacionados con la salud, se forman en muchos procesos del cuerpo, por ejemplo por el metabolismo o por el sistema inmune para atacar virus y bacterias. Sin embargo, existen factores ambientales como la contaminación, el cigarrillo y mala alimentación que aumenta la dosis de radicales libres que hay en nuestro cuerpo. El cuerpo maneja los radicales libres que se producen de forma natural, pero si la producción de los mismos es excesiva, se producen daños en el cuerpo (Youngson, 2003). En todas las células que consumen oxígeno, el metabolismo y el estrés oxidativo generan diversos productos intermedios o subproductos que se conocen como especies reactivas al oxígeno (ROS). Estos compuestos son esenciales para la producción de energía, síntesis de compuestos y la fagocitosis, pero en los últimos veinte años se ha demostrado que los ROS pueden ser los causantes de las enfermedades degenerativas (OMS, 2011).

La gran cantidad de casos de cáncer y de enfermedades degenerativas como el Alzheimer y el envejecimiento prematuro ha generado la búsqueda de sustancias, compuestos o moléculas que ayuden en su prevención y tratamiento. El uso de sustancias biológicas que sean efectivas y menos costosas que un tratamiento químico, que además ofrezca un mejor beneficio es el objetivo de la biotecnología. Las crucíferas son plantas caracterizadas por su gran contenido en compuestos antioxidantes. El manejo de métodos establecidos permite encontrar una diversidad de compuestos antioxidantes activos que generan la captación de radicales libres, identificando aquellas que son más efectivas para determinadas enfermedades.

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial. Esto es resultado de la interacción de factores genéticos y externos (físicos, químicos y biológicos), que producen la degeneración de las células con lo que se originan lesiones precancerosas y finalmente tumores malignos. Dichos tumores suelen estar localizados, pero eventualmente pueden diseminarse a otros órganos (metástasis). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó en 2008 que la principal causa de muerte en el mundo es el cáncer (7.6 millones de casos), localizados en su mayoría en pulmón, estómago, hígado, colon y mama (OMS, 2011). Los componentes bioactivos de las plantas crucíferas son sustancias que ayudan a contrarrestar éste tipo de enfermedades del cuerpo humano. Los vegetales crucíferos contienen en su composición a los glucosinolatos y éstos a su vez se hidrolizan a isotiocianatos (ITC), uno de los más conocidos y estudiados es el sulforafano el cuál se encuentra en el brócoli y es considerado como un agente preventivo en la formación de agentes cancerígenos (Zhang *et al.*, 1992b), de ahí la importancia de informar y de conocer que las dietas elaboradas con vegetales crucíferos son dietas con alto contenido de ITC los cuales juegan un rol importante en la prevención contra el cáncer. El objetivo de esta investigación fue evaluar el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de extractos de las semillas de plantas crucíferas mediante métodos espectrofotométricos, para la estimación de su potencial fitoquímico.

## **METODOLOGÍA**

### **Material vegetal**

Se utilizaron semillas comerciales de brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), coliflor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*), rábano (*Rhapanus sativus*) y repollo (*Brassica oleracea* var. *viridis*) de la distribuidora "Semillas García" de Ciudad Obregón, Sonora, México.

### **Preparación de extractos**

Se pesaron distintas cantidades de semillas en mg (40, 30, 20, 10) por duplicado, previamente maceradas en un mortero y se colocaron en viales de color ámbar. Se les adicionó 5 ml de metanol al 80% y se sonicaron por 5 minutos, después se filtraron en viales ámbar, utilizando papel Whatman #41. Se almacenaron a -10°C.

### **Determinación de humedad**

Se pesaron 0.5 g de cada semilla por triplicado y se determinó su humedad utilizando una termobalanza (*Infrared Moisture Determination Balance*, modelo AD-4714 A).

### **Determinación del radical DPPH**

Se utilizó la metodología citada por Brand-Williams *et al.*(1995) con modificaciones para microplaca. La reacción se lleva a cabo en la oscuridad. Se añadió a cada pozo 40 µl de solución estándar de trolox o muestra a distintas concentraciones (200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 20 y 10 µM); Después se añadieron 160 µl de solución DPPH 120 µM, se mezcló y se dejó reposar por 30 minutos. Se leyó la absorbancia a 515 nm en un *Spectro Star Nano*. Se utilizó 200 µl de metanol al 80% como blanco y

200 µl de DPPH 120 µM como control. Se calculó el % de Inhibición con la formula % inhibición = [(Abs control – Abs muestra) X100]/Abs control].

#### **Determinación del método ABTS**

Se utilizó la metodología de Re *et al.* (1999) modificado para micro placa. La reacción se lleva a cabo en la oscuridad. Se añade a un pozo 200 µl de ABTS. Después se añade 25 µl de muestra o estándares de distintas concentraciones (5, 10, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250 µM) y se permite reaccionar por 6 minutos. Se lee la absorbancia a 734 nm. Se utilizó 225 µl de metanol al 80 % como blanco y 225 µl de ABTS como control.

#### **Determinación de Polifenoles totales**

Se utilizó la metodología descrita por Ainsworth y Gillespie (2007) que maneja el reactivo de Foulin-Ciocalteu con modificaciones para microplaca. La reacción se lleva a cabo en la oscuridad. Se añade a un pozo 50 µl de muestra; solución estándar de ácido gálico a distintas concentraciones (10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 µM). Después se añade 50 µl del reactivo de Foulin-Ciocalteu 0.5 N y se permite que reaccione durante 5 minutos. Luego se añade 100 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% y se permite reaccionar por 30 minutos. La absorbancia es leída a 760 nm. Se utilizaron 50 µl de H<sub>2</sub>O destilada como blanco.

#### **Preparación de extractos para Isotiocianatos Totales**

Se pesaron 500 mg de semillas (brócoli, coliflor, rábano y repollo) en vasos de precipitado de 25 ml, se les agregó 2 ml de agua mQ y se incubó a 45 °C ± 2 en una incubadora (*Hei- VAP Value de Heidolph*). Se les añadió 5 ml de diclorometano y se sonicaron 1 minuto. Los extractos se reposaron durante 30 minutos. Posteriormente se filtraron en papel Whatman #41 y se lavaron con 1 ml de diclorometano. El extracto obtenido se purificó en una columna de carbón activado, previamente activada con 3 ml de diclorometano. Los viales se evaporaron a temperatura ambiente y los isotiocianatos se recuperaron en 5 ml de metanol.

#### **Determinación de isotiocianatos totales por el ensayo de ciclocondensación**

Se utilizó la metodología de Zhang *et al.* (1992a) modificado para microplaca. En un vial Eppendorf se adicionaron 90 µl del buffer fosfato 20 µM; pH = 8.5 a temperatura ambiente. Después se añadieron 50 µl de estándar sulforafano o del extracto. Finalmente se añade 100 µl del reactivo 1,2-Bencenoditiol y se agitan en vórtex para homogenizar. Los viales se incubaron a 65 °C por 2.5 horas, cerrados herméticamente, evitando la entrada de oxígeno en las muestras. Pasado el tiempo de incubación se vacían en la microplaca y se leen a 365 nm. Se utilizan 200 µl del reactivo 1,2-bencenoditiol como blanco.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Determinación de humedad y Sólidos Totales (ST)**

El análisis se realizó por triplicado en cada muestra de semilla. Los valores obtenidos varían entre 8 y 10.9 % humedad y en 0.9 -0.91 en ST (tabla 1). Estos valores son similares a los reportados por Gawrysiak-Witulska (2011) en el cual menciona que en semillas de plantas crucíferas el % de

humedad se encuentra entre 10 y 15.5. Así mismo Almeida *et al.*, (2005) reportan un % de humedad de 6.02% en semillas de un cultivo de *Brassica oleracea* var. *Italica* recién recolectadas. El contenido de humedad en las semillas puede cambiar significativamente con el tiempo después de la etapa de floración; también intervienen factores como la cosecha, el almacenamiento y el secado adicional (Ekpong y Sukprakarn, 2008).

**Tabla 1. Porcentaje de humedad y sólidos totales (ST) en semillas de plantas crucíferas.**

Muestra	Repetición	% Humedad	Sólidos Totales(ST)	Prom ST
Brócoli	1a	8.6	0.914	0.9173
	1b	8.0	0.92	
	1c	8.2	0.918	
Coliflor	1a	10.9	0.89	0.9033
	1b	10.0	0.90	
	1c	8.1	0.919	
Rábano	1a	10.0	0.90	0.9026
	1b	8.9	0.911	
	1c	10.3	0.897	
Repollo	1a	9.8	0.902	0.9013
	1b	10.0	0.90	
	1c	9.8	0.902	

#### Linealidad

Se realizaron curvas de calibración para cada método con sus respectivos estándares, obteniendo coeficientes de correlación altos con rangos entre 0.9944 a 0.9992 (tabla 2).

**Tabla 2. Linealidad de los métodos DPPH, ABTS, CFT e ITC totales.**

Método	Estándar	Rango ( $\mu\text{g/mL}$ )	Ecuación de la recta	Coefficiente de correlación ( $r^2$ )
DPPH	Trolox	10 - 175	$y = 0.3517x + 18.651$	0.9974
ABTS	Trolox	5 - 250	$y = 0.3364x + 13.206$	0.9983
CFT	Ácido gálico	20 - 100	$y = 0.0104x + 0.0524$	0.9992
ITC totales	Ácido gálico	13 - 35	$y = 0.0171x - 0.0779$	0.9944

### Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó con las técnicas DPPH y ABTS (tabla 3). Los resultados son similares en la captación del radical DPPH y ABTS con un rango de 18-28 mg ET/g bs. Posmyk *et al.*, (2008) determinó la capacidad de captación del radical ABTS en semillas de repollo y obtuvieron un valor doblemente mayor que el obtenido en este estudio, esto se debe a la variedad de repollo utilizada (repollo morado). Babbar *et al.* (2011), utilizó residuos de coliflor con la técnica DPPH obteniendo un valor de 9.2 mg, menor que el contenido en la semillas de coliflor.

**Tabla 3. Capacidad de captación de los radicales DPPH y ABTS en extractos de semillas de plantas crucífera.**

Muestra	DPPH (mg ET/g base seca)	ABTS (mg ET/g base seca)
Brócoli	28.015 ± 0.06	26.55 ± 0.77
Coliflor	29.53 ± 0.19	22.80 ± 1.12
Rábano	27.345 ± 0.15	18.82 ± 1.58
Repollo	28.05 ± 0.14	27.24 ± 1.60

\*Los resultados muestran el promedio de tres repeticiones ± la desviación estándar.

### Determinación de Compuestos Fenólicos Totales (CFT)

Se realizaron dos ensayos con tres repeticiones de cada muestra de semilla (tabla 7). Los resultados se expresaron en miligramo equivalente de ácido gálico por gramo en base seca (mg EAG/g bs). Las semillas de repollo contienen la mayor cantidad de CFT con 5.29 mg EAG/g bs, seguido por las semillas de brócoli con 4.41 mg EAG/g y después el coliflor y el rábano con 4.22 y 4.05 mg EAG/g bs respectivamente, estos resultados son similares a los presentados por Okada *et al.*, (2010). Se ha comprobado que la utilización del solvente orgánico metanol en extracciones de semillas o cáscaras de frutas y vegetales, permite alcanzar los niveles más altos de compuestos fenólicos totales (Izquierdo, 2011), mientras que extracciones con etanol y agua, acetona y agua o hexano presentan menor concentración de los compuestos, debido a que algunos compuestos fenólicos como los flavonoides son polares al igual que algunas estructuras glicosídicas y son más solubles en soluciones polares como el metanol que en soluciones no polares como el hexano y la acetona (Bocco *et al.*, 1998). Un estudio realizado por Ahmed *et al.*, (2013) muestra que en la planta de coliflor hervida se obtuvo un total de 3.76 mg EAG/g. La tabla 4 muestra que se obtienen 4.22 mg EAG/g bs en los extractos de semilla de coliflor, un valor mayor, demostrándose que las semillas poseen una mayor cantidad de compuestos fenólicos totales que una planta desarrollada y procesada.

Tabla 4. Contenido de CFT en semillas de plantas crucíferas.

Muestra	Repetición	Valor (mg EAG/g bs)	Promedio $\pm$ DS
Brócoli	1a	4.33	4.41 $\pm$ 0.15
	1b	4.30	
	1c	4.59	
	2a	4.22	4.19 $\pm$ 0.03
	2b	4.20	
	2c	4.16	
Coliflor	1a	4.23	4.22 $\pm$ 0.06
	1b	4.15	
	1c	4.28	
	2a	3.83	3.84 $\pm$ 0.02
	2b	3.86	
	2c	3.83	
Rábano	1a	3.95	4.05 $\pm$ 0.08
	1b	4.10	
	1c	4.10	
	2a	4.56	4.58 $\pm$ 0.11
	2b	4.70	
	2c	4.47	
Repollo	1a	5.35	5.29 $\pm$ 0.27
	1b	5.53	
	1c	4.99	
	2a	3.69	3.87 $\pm$ 0.20
	2b	4.09	
	2c	3.83	

\*Los datos están expresados como la media  $\pm$  DS de los dos ensayos por triplicado.

#### Isotiocianatos Totales (ITC)

Los resultados están expresados en miligramos equivalentes de sulforafano por gramo en base seca (mg ESF/g bs). El contenido de isotiocianatos totales varía en cada muestra de 1.28 – 0.65 mg ESF/g bs (tabla 5). El mayor nivel de isotiocianatos totales se observó en los extractos de semilla de brócoli con 1.28 mg ESF/g bs. El brócoli es la principal fuente del isotiocianato sulforafano, su precursor glucorafanina constituye del 50 al 80% de glucosinolatos totales presentes en este vegetal (Borowsky *et al.*, 2008).

El contenido de isotiocianatos en la coliflor y el repollo fue de 0.8 y 0.68 mg ESF/g bs cada uno. El menor contenido, como en los análisis anteriores, se registró en las semillas de rábano con 0.65 mg E SF/ g bs. Un estudio reportado por Syed *et al.*, (2009) muestra un contenido de isotiocianatos

en rábano similar comparado con en el presente estudio con un rango de 0.42 a 1.18 mg/g. El contenido de isotiocianatos totales depende de las condiciones de cultivo, almacenamiento y la manipulación del alimento en fresco o semilla (Rangkadilok *et al.*, 2002 y Van *et al.*, 2009), además en su estudio utilizaron un cromatógrafo de gases para la identificación de los diversos isotiocianatos, el cuál es considerado un método de mayor precisión (Skoog *et al.*, 2001).

**Tabla 5. Contenido de ITC en semillas de plantas crucíferas.**

Muestra	Repetición	Valor (mg ESF/g bs)	Promedio $\pm$ DS
<b>Brócoli</b>	1a	1.07	1.06 $\pm$ 0.008
	1b	1.06	
	1c	1.05	
	2a	1.22	1.28 $\pm$ 0.12
	2b	1.42	
	2c	1.19	
<b>Coliflor</b>	1a	0.70	0.80 $\pm$ 0.10
	1b	0.79	
	1c	0.92	
	2a	0.55	0.57 $\pm$ 0.05
	2b	0.63	
	2c	0.52	
<b>Rábano</b>	1a	0.46	0.51 $\pm$ 0.04
	1b	0.54	
	1c	0.53	
	2a	0.58	0.65 $\pm$ 0.06
	2b	0.69	
	2c	0.69	
<b>Repollo</b>	1a	0.64	0.68 $\pm$ 0.08
	1b	0.77	
	1c	0.61	
	2a	0.59	0.60 $\pm$ 0.22
	2b	0.84	
	2c	0.38	

\*Los datos están expresados como la media  $\pm$  DS de los dos ensayos por triplicado.

En la figura 1 se puede apreciar los espectros UV de los productos de ciclocondensación de los extractos de semillas en plantas crucíferas. La figura indica que se detectaron los compuestos isotiocianatos con el método de ciclocondensación. Los isotiocianatos de las cuatro muestras fueron localizados a una longitud de 365 nm como su espectro máximo de absorción. El brócoli (rojo) es el que presenta la mayor longitud de onda debido a la presencia del isotiocianato sulforafano, ya que contiene alrededor del 80% de glucorafanina en la planta (Borowsky *et al.*, 2008). El repollo (café) mostró un rango similar al del brócoli con un pico menor. Se ha encontrado que el alilisotiocianato, cuyo precursor es la sinigrina es el glucosinolato más abundante en el repollo blanco (Fuller *et al.*, 2007). El sulforafeno es el isotiocianato que se encuentra en el rábano (verde) y en la coliflor (azul) se ha encontrado también al sulforafano como principal isotiocianato (Ahmed *et al.*, 2013).

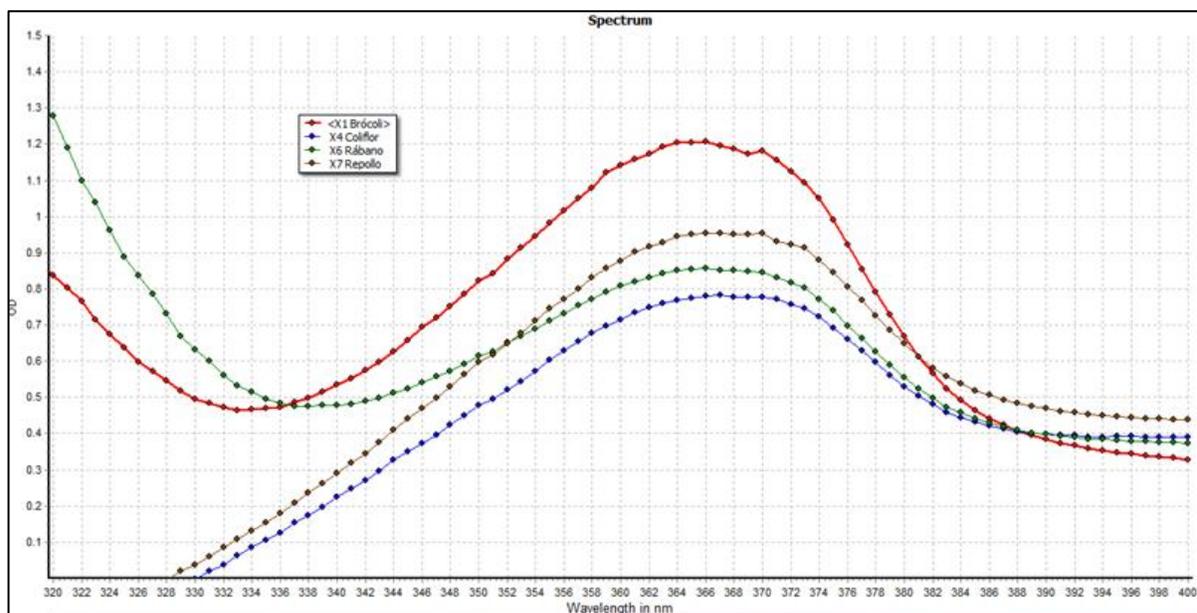


Figura 1. Espectros UV (*Spectro Nano Star*) de los productos de ciclocondensación en extractos de semillas crucíferas.

## CONCLUSIONES

Se logró un comportamiento lineal en los extractos de semillas de plantas crucíferas con la técnica DPPH, reafirmando que el % de inhibición es proporcional a la concentración. Los extractos de semillas de plantas crucíferas presentaron una elevada capacidad antioxidante y un alto contenido de compuestos fenólicos totales. El extracto de semillas de brócoli presentó el mayor contenido de isotiocyanatos totales. Los extractos de semillas de plantas crucíferas son una fuente de compuestos bioactivos en altas concentraciones.

## REFERENCIAS

Ahmed, F.A., & Ali, R.F.M. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh and processed white cauliflower. *BioMed Research International*, 367819. doi:10.1155/2013/367819.

- Ainsworth, E.A. & Gillespie, K.M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2, 875–877.
- Almeida, C., dos Santos, S., Fernandes, L. (2005). Polymer coating, germination and vigor of broccoli seeds. *Scientia Agricola*, 62 (3): 221-226.
- Babbar, N., Singh Oberoi, H.S, Sandhu, K.S & Bhargav, V.K. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. 2011. Central Institute of Post-Harvest Engineering and Technology, Ludhiana, 141 004, India.
- Bocco, A., Cuvelier, M.E., Richard, H. & Berset, C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 46 (6): 2123-2129.
- Borowski, J., Szajdek, A., Borowska, E.J., Ciska, E., & Zielinski, H. (2008). Content of selected bioactive components and antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* L.) *European Food Research and Thecnology*. 226, pp. 459-465.
- Ekpong, B. & Sukprakarn, S. (2008). Seed physiological maturity in dill (*Anethum graveolens* L.). *Kasetsart Journal of Natural Science*, 42 (5): 1-6.
- Fuller, Z., Louis, P., Mihajlovski, A., Rungapamestry, V., Ratcliffe, B. & Duncan, A.J. ( 2007). Influence of cabbage processing methods and prebiotic manipulation of colonic microflora on glucosinolate breakdown in man. *Brit J NUTR*; 98(2): 364-372.
- Gawrysiak-Witulska, M., Siger, A., Wawrzyniak, J. & Nogala-Kałużka, M. (2011) Changes in tocochromanol content in seeds of *Brassica napus* L. during adverse conditions of storage. *J Am Oil Chem Soc* 88:1379–1385.
- Izquierdo Hernández, A. (2011). Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de *Vitis vinifera*. Disponible en <http://tesis.uchile.cl/handle/2250/111142>
- Lam, T.K., Gallicchio, L., Lindsley, K., Shiels, M., Hammond, E., Tao, X.G., Chen, L., Robinson, K.A., Caulfield, L.E., Herman, J.G., Guallar, E. & Alberg, A.J. (2009). Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk: a systematic review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* : A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 18(1), 184–195. <http://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0710>
- Okada, Y., Okada, M. & Sagesaka, Y. (2010). Screening of dried plant seed extracts for adiponectin production activity and tumor necrosis factor-alpha inhibitory activity on 3T3-L1 adipocytes. *Plant Foods Hum Nutr* 65:225–232.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011). Cancer. Fact sheets num. 297. Octubre, 2011. Recuperado el 9 de enero de 2012, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html> .
- Posmyk, M.M., Kontek, R. & Janas, K.M. (2008) Red cabbage extract limits copper stress injury in meristematic cells of *Vicia faba*. *Acta Physiol Plant* 30:481–491

- Rangkadilok, N., Tomkins, B., Nicolas, M.E., Premier, R.R., Bennett, R.N., Eagling, D.R. & Taylor, P.W. (2002). The effect of post-harvest and packaging treatments on glucoraphanin concentration in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, pp.7383-7391.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231-1237.
- Skoog, D., Holler, F.J. & Nieman, T.A. (2001). Principios de análisis instrumental. 5ta ed. España: McGraw-Hill, p. 731-786.
- Syed, B., Lakshmi, M. & Naveen, A. (2009). Comparative activity against pathogenic bacteria of the root, stem, and leaf of *Raphanus sativus* grown in India. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 25:465-473.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). Plant Physiology, 3a ed. Pp. 690. USA: Sinauer Associates, Inc.
- Van Eylen, D., Bellostas, N., Strobel, B.W., Oey, I., Hendrickx, M., Van Loey, A., Sorensen, H. & Sorensen, J.C. (2009). Influence of pressure/temperature treatments on glucosinolate conversion in broccoli (*Brassica oleraceae* L. cv *Italica*) heads. *Food Chem*; 112 (3): 646-653.
- Youngson, R. (2003). Antioxidantes y radicales libres (Vol. 132). Edaf.
- Zhang, Y., Cho, C.G., Posner, G.H. & Talalay, P. (1992a). Spectroscopic quantitation of organic isothiocyanates by cyclocondensation with vicinal dithiols. *Anal. Biochem.*; 205:100-107.
- Zhang, Y., Talalay, P., Cho, C.G. & Posner, G.H. (1992b). A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*; 89:2399-2403.

## CAPÍTULO IV

### FORMULACIÓN DE TORTILLAS DE HARINA, SUPLEMENTADAS CON HOJAS SECAS DE MORINGA (*Moringa oleifera*)

\* Pérez Tello, G.O.<sup>1</sup>; Leyva Santi, J.N.<sup>1</sup>; Márquez Castillo, A.<sup>1</sup>; Canett Romero, R.<sup>2</sup> e Islas Rubio, A.R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui. Block 611, Valle del Yaqui, Municipio de Bácum, Sonora, México. Tel. 6434357100. <sup>2</sup> Universidad de Sonora. Depto. de Investigación y Posgrado en Alimentos. Ave. Rosales y Blvd. Luis Encinas s/n., Hermosillo, Sonora, México. Tel: 622592207. <sup>3</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Cereales. Carretera a la Victoria, Km. 0.6, Hermosillo, Sonora, México. Tel. 6622892400.

\*gperez.tello@itvy.edu.mx

**Palabras clave:** tortilla, moringa, nutrición.

## INTRODUCCIÓN

La desnutrición es uno de los problemas con mayor relevancia tanto en México, Centroamérica, como en la región, esto se debe a una dieta pobre de los nutrientes esenciales; este es un problema de salud, que desde décadas atrás lo padecen muchos países, principalmente de escasos recursos o en vías de desarrollo (Alfaro y Martínez, 2008; Camou, 1994; Chávez *et al.*, 1994; Ortega y Valencia, 2002; Sánchez, 1988 y Vuong *et al.*, 2002).

En México, las estadísticas de la Encuesta Nacional de Nutrición, llevadas a cabo en 1979, reportaron 54% de los niños del grupo preescolar con algún grado de desnutrición. En 1996, en la Encuesta Nacional de Alimentos se mencionó la existencia de 42.7% menores de cinco años que padecían desnutrición; de éstos, 25.9% presentaron desnutrición leve, 12.7% moderada y 4.2% severa. Mientras los informes emitidos por la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999, del Instituto Nacional de Salud Pública, refirieron para ese año un número de 4'480 100 (25.2%) niños menores de cinco años con algún grado de desnutrición, de los cuales 800 000 sufrían desnutrición de alto riesgo (Bourges *et al.*, 2001; Burlingame, 2000; Calderón de la Barca, 1999; Carrasco, 2008; Castro, 2008 y Contreras, 2008). Entre 1988 y 2012, las prevalencias de las tres formas de desnutrición en menores de cinco años han tenido disminuciones notables. La prevalencia de emaciación (bajo peso para talla) y bajo peso disminuyeron a una cuarta parte de las prevalencias de 1988, para alcanzar valores compatibles con poblaciones sin desnutrición; mientras que la desnutrición crónica (baja talla), aunque disminuyó a la mitad de la prevalencia de 1988, sigue siendo elevada (13.6%), pues representa casi 1.5 millones de menores de cinco años en dicha condición (Sánchez y Martínez, 2013 y Sandoval y Meléndez, 2008).}

La desnutrición es una asimilación deficiente de alimentos por el organismo, que conduce a un estado patológico de distintos grados de severidad y variadas manifestaciones clínicas o un estado patológico del organismo, que no permite un adecuado aprovechamiento de los nutrientes que son consumidos, ocasionando un deterioro del cuerpo (Palacios y Román, 1994; Popkin *et al.*, 2001; Pries, 1996 y Vuong, 2000). Esta condición sitúa a esta enfermedad como un estado de deficiencia en el consumo

de energía o nutrimentos que va a afectar de modo negativo la salud de quien la padece, incluso puede, según el grado de afectación, dejar secuelas permanentes o poner en peligro la vida (Santana y Meza, 2008; Secretaría de Salud, 2009 y Vaqueiro, 2000).

Por otro lado en investigaciones recientes se ha encontrado una planta con gran cantidad de nutrientes esenciales en su estructura a la cual se le conoce como moringa (*Moringa oleifera*) es una planta de gran interés social (Marcu, 2005). Asimismo, se ha reportado un aporte significativo de vitaminas hidrosolubles, además de minerales en alimentos tradicionales y autóctonos de diversas partes del mundo que emplean las hojas o extractos de alguna parte de la planta de moringa, para su elaboración culinaria (Durning, 1992; Engelberger, 1999; Fediuk *et al.*, 2002; Goering, 1993; Kuhnlein y Burgess, 1997; Kuhnlein y Chan, 2000 y Puwastien *et al.*, 1999). Una ventaja adicional del consumo de este vegetal, es el efecto funcional para la salud, ya que se han encontrado aplicaciones curativas de algunas enfermedades, así como poder clarificante y desinfectante de aguas para consumo humano (Castro, 2008; Kuhnlein y Soueida, 1992; Kuhnlein, 2000; Kuhnlein, 2001 y Kuhnlein *et al.*, 2002). Durante este estudio, al producto de la formulación aceptada se le realizó un análisis químico proximal y se compararon los datos con los de las bibliografías existentes dando esto como resultado un aumento en cuanto a proteína y fibra dietaria (Liu *et al.*, 2012 y Moyo *et al.*, 2011). Se pretende que los resultados sirvan como base para explorar el uso de este extracto vegetal a otras áreas de uso agroindustrial o formulación de alimentos en zonas marginadas del Sur de Sonora.

## **METODOLOGÍA**

Se recolectaron hojas tiernas del árbol de moringa en los huertos del FAI-SON (Fundación de Apoyo Infantil Sonora, IAP) en la Colonia Severo Girón en Cd. Obregón, Son., así como de plantaciones del CBTA (Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario) No. 97 de Providencia, Sonora. Las hojas se guardaron en bolsas de polietileno para ser transportadas y almacenadas en el laboratorio de análisis de alimentos del Instituto Tecnológico de del Valle del Yaqui (ITVY), a temperatura ambiente. Las hojas fueron secadas en el horno a temperatura de 60-70°C por 3-5 horas, de acuerdo al número y tamaño de las mismas. Una vez secas, son trituradas en el mortero de manera manual luego fueron tamizadas a través de una malla No. 40. El polvo resultante fue almacenado en frascos de vidrio, secos y limpios. Se realizó el producto de acuerdo a las recetas tradicionales, a las cuales se les fueron modificando los ingredientes de acuerdo a las características sensoriales que éstas presentaban, hasta lograr un buen sabor y una buena textura. Posteriormente a esta formulación previamente aceptada se le añadió polvo de hoja de moringa en las concentraciones de 1 y 5% del total de los ingredientes para elaborar la masa de la preparación de tortillas.

Se elaboraron los productos con harina de trigo integral y con harina blanca, misma cantidad de sal, manteca, agua; donde la única variante fue la cantidad del polvo de la hoja de moringa. De las anteriormente mencionadas se seleccionó la mejor de acuerdo a las características que estas presentaban. Todo ello se llevó a cabo en el laboratorio de análisis de alimentos del ITVY y se realizó una prueba sensorial preliminar.

Una vez obtenida la formulación se preparó la masa de manera manual; se añadieron los ingredientes uno a uno a una bandeja, se agregó agua hervida, mezclando y amasando los ingredientes por 10 minutos, enseguida se cortó la masa en raciones de 40g aproximadamente, dando forma de bolas, las cuales se dejaron reposar 30 minutos dentro de una bolsa de polietileno para luego ser

extendidas en una tabla plana con la ayuda de un rodillo de madera. Las tortillas son cocidas en un comal previamente calentado; se enfriaron y se empacaron en bolsas de polietileno etiquetadas con el nombre de producto, porcentaje de moringa y fecha. Una parte del lote se refrigeró para los análisis posteriores y otra parte, se utilizó para realizar análisis microbiológicos de vigilancia durante una semana de almacenamiento a temperatura ambiente, simulando su estancia en las tiendas de abarrotes y supermercados. Las pruebas microbiológicas fueron las señaladas por las normas Oficiales Mexicanas para alimentos procesados, como se mencionan en párrafos posteriores.

Con los resultados obtenidos se realizó una prueba por ordenamiento hedónico con 65 jueces no entrenados, con el fin de obtener la combinación más aceptada de cuatro características sensoriales de color, sabor, olor y textura, esto con el fin de valorar la aceptación (figura 1).

Se realizó un análisis químico proximal a las formulaciones seleccionadas sensorialmente, utilizando las metodología propuestas por la AOAC (AOAC, 2000), mientras que para el análisis de fibra dietaria, se utilizó la propuesta por Prosky y col. (Prusky *et al.*, 1992) en base al método establecido por la AOAC 985, 29 (Kuhnlein y Pelto, 1997 y Kuhnlein y Receveur, 1996). El ensayo determina el contenido de fibra dietética total en los alimentos mediante una combinación de métodos gravimétricos y enzimáticos. Las muestras secas y desgrasadas son enzimáticamente digeridas con alfa amilasa estable al calor y después con proteasa y amiloglucosidasa para remover la proteína y el almidón presente en la muestra. Se agregó etanol para precipitar la fracción de la fibra soluble. El residuo es después filtrado, lavado con etanol y acetona, secado y pesado. La mitad de las muestras fueron analizadas para proteína y el resto de las cenizas. La fibra dietética de cada una de las fracciones es el peso del residuo menos el peso de la proteína y el peso de la ceniza. Esta determinación se realizó utilizando un kit comercial enzimática (Sigma, TDF-100A /TDF-C10). Este análisis se efectuó en el Laboratorio de Análisis Generales del DIPA de la Universidad de Sonora, en la Cd. de Hermosillo, Son. Los análisis microbiológicos se basaron a lo estipulado en las NOM-092-SSA1-1994 y NOM-111-SSA1-1994 para mesofílicos aerobios y hogos y levaduras, respectivamente.

Para la determinación de precio de venta (PV), se realizó en base al criterio sugerido por De Coster y col., (De Coster, 1985), considerando los Costos de Producción (CP), Costos de Materias Primas /CMP) y Margen de Contribución (MC). El margen de utilidad fue fijado en un límite de 25 %; valor sugerido para productos alimenticios considerando que este producto es de consumo inmediato con una vida en la tienda máximo de una semana.

Se realizó un diseño completamente al azar para cada formulación experimental. Se realizó un análisis de varianza para los datos obtenidos y con una significancia de 5%. Se aplicó la prueba de Tukey para comparación de medias al mismo nivel de significancia.

ITVY

**ANALISIS SENSORIAL DE TORTILLA INTEGRAL**

SEXO \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

1.- DE LAS SIGUIENTES 2 MUESTRAS, CALIFICA DE MANERA GLOBAL TU PREFERENCIA EN UNA ESCALA DEL 1 AL 10.

MTRA2873 \_\_\_\_\_ MTRA7435 \_\_\_\_\_

2.-¿USTED COMPRARIA ESTE PRODUCTO SI SE ENCONTRARA EN EL MERCADO?

SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_

3.- CONSUMO DE TORTILLA DE HARINA INTEGRAL.

DIARIO \_\_\_\_\_ 2 A 3 VECES POR SEMANA \_\_\_\_\_

CADA SAMANA \_\_\_\_\_ CADA MES \_\_\_\_\_ OCASIONALMENTE \_\_\_\_\_ NUNCA \_\_\_\_\_

4.- EN UNA ESCALA DEL 1 AL 10, CALIFICA LOS SIGUIENTES ATRIBUTOS SENSORIALES DE LAS MUESTRAS ANTERIORES

MTRA. 2873	MTRA. 7435
COLOR _____	COLOR _____
SABOR _____	SABOR _____
TEXTURA _____	TEXTURA _____
AROMA _____	AROMA _____

GRACIAS POR SU COOPERACION!!

**Figura 1. Cuestionario utilizado para la prueba sensorial por ordenamiento hedónico final**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de realizar varias formulaciones para tortillas de harina de trigo integral enriquecidas con el polvo de las hojas de la planta de moringa (*Moringa oleifera*); se seleccionó la que contaba con 50% de harina de trigo blanca, 50% de harina de trigo integral y el 1% del polvo de la hoja de la planta de

moringa. Esta fue la formulación más aceptable que se obtuvo luego de varios experimentos preliminares; en la cual no se notó cambio en cuanto a los atributos sensoriales de la receta original; siendo casi imperceptible la moringa.

La receta utilizada en este estudio, es la tradicional de la región, modificada al adicionar el 1% del total de la masa con el polvo de la hoja de moringa, lo cual no cambia sabor ni olor, pero sí color aunque de una forma aceptable al consumidor final, siendo éste un poco más oscuro que el del producto original.

La tabla 1 presenta los resultados del análisis químico proximal realizado a la formulación aceptada de las tortillas de harina integral enriquecidas con hojas de moringa, así como los resultados de la muestra sin moringa y los resultados de hojas de la moringa.

**Tabla 1. Resultados del análisis químico proximal (g/100g alimento).**

MUESTRA	COMPONENTE					
	PROTEINA CRUDA	EXTRACTO ETereo	HUMEDAD	CENIZAS	EXTRACTO LIBRE DE NITROGENO	FIBRA DIETARIA
HOJA SECA DE MORINGA	29.30±1.52	2.3±0.005	7.5±0.002	2.4±0.001	19.60±0.85	38.9±0.26
TORTILLA CON MORINGA (1%)	8.74±0.201*	19.20±0.623	13.04±0.009	0.87±0.003*	49.72±1.25	8.43±0.006*
TORTILLA SIN MORINGA	5.13±0.005	19.44±0.871	18.73±0.076*	0.31±0.001	52.88±3.42	3.51±0.012

\*Diferencia significativa (p<0.05)

Los resultados obtenidos en el análisis químico proximal, muestra un incremento del 3.6 % de proteína cruda en las formulaciones de tortillas suplementadas con 1 % de hojas secas de moringa, con respecto a una tortilla sin este ingrediente. Este valor es estadísticamente diferente y revela que a pesar de ser un valor pequeño de moringa, su efecto es observable en el producto final. Un valor de más del 1%, incluyendo un límite de 5%, tiene un efecto adverso en la apariencia y sabor de la tortilla elaborada; razón por la cual, esta última formulación no fue aceptada por los jueces evaluadores (Bourges *et al.*, 2001).

Por otra parte, el análisis microbiológico realizado al producto final mostró pruebas negativas de crecimiento en el contenido de microorganismos mesofílicos aerobios presentes en la muestra así como el contenido de hongos y levaduras (tabla 2). Estos resultados muestran que el producto elaborado experimentalmente, es inocuo para la salud humana, al menos en los 7 días posteriores a su elaboración, intervalo en el que fue evaluado cada tercer día. Hay que considerar que no se

añadieron conservadores químicos para alargar su vida útil. Los análisis se realizaron en muestras de tortillas almacenadas a temperatura ambiente ( $30\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) por triplicado, de acuerdo a lo señalado anteriormente para las Normas Oficiales Mexicanas en la cuantificación de mesofílicos aerobios, hongos y levaduras.

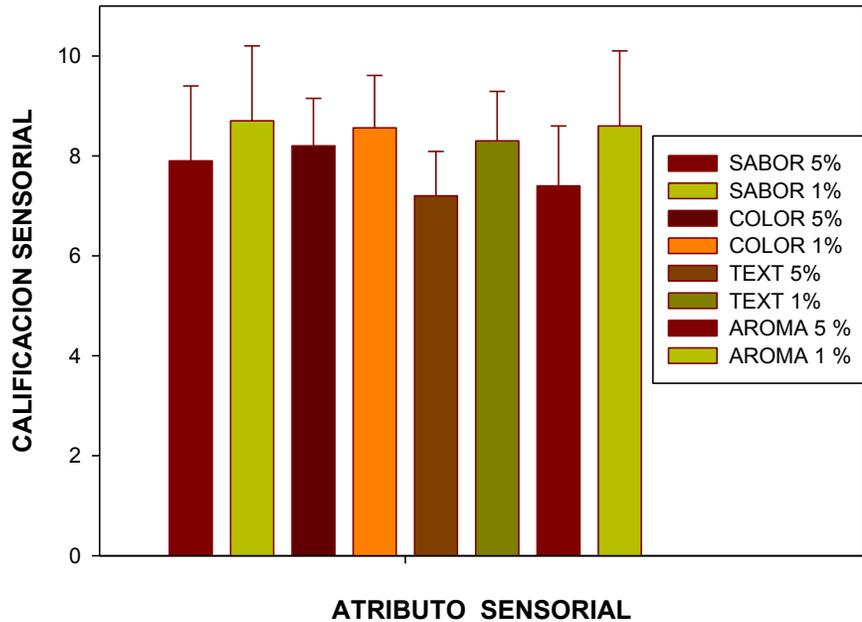
**Tabla 2. Análisis microbiológico de tortilla de harina integral con 1% de hojas secas de moringa.**

Análisis	Muestra		
	Tortilla 1% Moringa	Testigo1	Testigo2
Mesófilas aerobios	(-)	(-)	(-)
Hongos y levaduras	(-)	(-)	(-)

(-) Prueba negativa; (+) Prueba positiva

De acuerdo a los resultados obtenidos, el producto elaborado fue de buena calidad microbiológica, al no manifestarse la presencia de los microorganismos analizados. Por lo tanto, se infiere una elaboración aséptica del producto final.

Respecto a la evaluación sensorial realizada, los valores de la formulación al 1% con moringa, mostraron resultados promedio de 8.7 para el sabor, 8.5 para color, 8.2 para textura de 8.2 y 8.6 para aroma. En comparación, la formulación al 5% de moringa, mostró los siguientes resultados: en promedio: sabor: 7.9; color: 8.0; textura: 7.2 y aroma: 7.3 (figura 2). Estos datos no son estadísticamente diferentes para ambas formulaciones ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2. Resultados de la evaluación sensorial por preferencia hedónica (calificaciones de 1 al 10) de tortillas adicionadas con moringa 5% y moringa 1%; evaluando: sabor, color, textura y roma.**

Un problema de aceptación en las tortillas elaboradas, fue el color verde proporcionado por la adición de hojas secas de moringa. Dicho color es semejante al observado en productos a base de nopal, razón por la cual el producto es confundido con este ingrediente vegetal a pesar de la incorporación de harina integral de trigo y posteriormente, de harina normal o blanca de este cereal, el color no varió significativamente a simple vista (Palacios y Román, 1994 y Popkin *et al.*, 2001). La figura 3, muestra imágenes del cocimiento en comal de las tortillas elaboradas a nivel laboratorio.



**Figura 3. Cocimiento de tortillas enriquecidas con hojas de moringa al 1% en el laboratorio.**

Respecto al precio de venta (PV) obtenido, éste fue de \$9.60 pesos por paquete de 400g con 10 tortillas. Considerando el porcentaje de inflación promedio nacional, se considera un valor accesible a la mayoría de la población rural y de bajos ingresos en el Valle del Yaqui (tabla 3). Cabe señalar que este producto podría servir como proyecto productivo comunitario para generar empleos en estas regiones del estado, incidiendo en la mejora económica de la misma y mejorando la ingesta de proteínas de buena calidad, en la dieta diaria de sus pobladores. Los hábitos alimenticios serían determinantes en la aceptación de este producto; por lo que sería necesaria una culturización y capacitación en las diferentes comunidades marginadas, para lograr su comercialización exitosa y su posterior consumo.

**Tabla 3. Costos de Producción (CP) y Precio de Venta (PV) del producto final.**

Sueldo de empleados y renta			
	Diario	Mensual	Total mensual
Salario mínimo de 2 empleados	\$51/persona	\$1530/persona	\$3060
Gastos por servicios	\$ 880		
<b>Total de CP</b>	<b>\$3940</b>		
Considerando una producción de 1140 paquetes al mes, el CP sería de \$3940.00, y el CP por paquete sería de \$3.45.			
Costos Variables (CV):			
CV= CMP+CP	CV= \$5.93+ \$3.45		
<b>CV = \$9.38</b>			
Donde:			
CMP: Costos por materia prima			
CP: Costo de producción			
Considerando un margen de contribución (MC) del 25%:			
MC= (CV)(0.25)	MC= ( \$ 9.38)(0.25)		
<b>MC= \$ 2.34</b>			
Entonces PV =CV/(1-MC/100)	PV=(\$ 9.38)/(1- \$ 2.34/100)		
<b>PV= \$9.60/paquete de 400g</b>			

De acuerdo a encuestas realizadas en 3 poblados de la región sur del Valle del Yaqui, se estimó que al menos un 90% de la población, puede adquirir el paquete de tortillas mencionado. Otro punto de importancia sería la elaboración del producto para el consumo familiar debido a que ésta, no implica la inversión elevada de insumos para su producción; ni complicación para ser elaborados de la manera más rudimentaria. Su manufactura artesanal y en familia, serviría inclusive, como una fuente de ingresos adicional, si se vende entre la comunidad en que se habite. Es decir, la comercialización

del producto debido a la demanda del mismo y en relación al costo por producción, se considera como un proyecto factible para su establecimiento como empresa comunitaria y socializante para las comunidades marginadas o empobrecidas de la región.

La vida de anaquel en condiciones ambientales fue satisfactoria en promedio de 7 días, considerando un empaque de polietileno de baja densidad y en condiciones de humedad entre 30-50% HR. Este resultado podría ser alterado, considerando que las condiciones climáticas en el Valle del Yaqui, específicamente en comunidades pequeñas cercanas a canales de riego, muestran elevados valores de humedad y posible contaminación microbiana al aumentar la temperatura en los meses de primavera y verano. El estudio se desarrolló en los meses de agosto a diciembre de 2012, existiendo una media de 32.3 °C en estos meses y un promedio de humedad relativa de 45.3 %. Los meses más problemáticos en cuanto a temperatura se refiere, fueron julio y agosto. Aun así, los empaques de tortillas con moringa, mostraron resultados negativos en crecimiento microbiano. Esto puede atribuirse a la alta concentración de fibra en la harina integral de trigo y la relativa baja cantidad de agua disponible para reacciones químicas y crecimiento microbiano.

### **CONCLUSIONES**

De acuerdo al análisis sensorial por preferencia hedónica entre 65 jueces no entrenados, se seleccionó la formulación con 1 % de polvo de hojas de moringa y con partes iguales de harina blanca y harina integral. El valor proteínico de la formulación final seleccionada, fue de 8.74 %, en comparación con un 5.1 % de tortilla comercial integral de trigo. El contenido de fibra dietaria en tortillas con 1 % de moringa, tuvo un incremento del 4.9 %, en comparación con las tortillas sin moringa. Dato significativo para mejorar la ingesta de fibra entre la población rural. El análisis microbiológico en base a mesofílicos aerobios, hongos y levaduras, fue negativo, por lo que cumple satisfactoriamente los requerimientos de inocuidad microbiológica para alimentos procesados. El precio de venta por paquete de 400g en presentación de 10 tortillas, fue de \$9.60, el cual se encuentra accesible para la mayor parte de la población incluyendo a los más vulnerables de la región.

### **REFERENCIAS**

- Alfaro, N.C. y Martínez, W.W. (2008). Uso potencial de la moringa (*Moringa oleifera*) para la producción de alimentos nutricionalmente mejorados. INCAP. Guatemala, Guatemala.
- AOAC. 4.5.0.1 (2000). Method 920.39. official methods of analysis. 15<sup>th</sup> ed. Association of official analytical chemists. Washington, DC.1298pp.
- Bourges, H., Bengoa, J. y O'Donell, A. (2001). Reseña histórica sobre la nutriología en México. En Bourges, B. y O'Donell (Coords.), Historia de la Nutrición en América Latina. Fundación Cavendes, Inchnsz, CESNI, México, pp. 177–216.
- Burlingame, B. (2000). Wild nutrition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13: 99-100.

- Calderón de la Barca, A.M. (1999). "Los Productos Transgénicos: ¿Monstruos o Maravillas?" en Cuadernos de Nutrición. México, Fomento de Nutrición y Salud A.C. pp. 208–211.
- Camou, E. (1994). "La nostalgia del rancho. Notas sobre la cultura urbana y la carne asada" en Doode y Pérez (comps.) Sociedad, economía y cultura alimentaria. México, CIESAS, CIAD, A.C., pp. 421–432.
- Carrasco, N. (2008). "La cultura en la seguridad alimentaria: expresiones, usos y desafíos" en Sandoval, S. y M. J. Meléndez (coords.) Cultura y seguridad alimentaria: enfoques conceptuales, contexto global y experiencias locales. México, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Plaza y Valdez, 302 p.
- Castro, G. (2008). Syngenta: Contaminación Agroquímica <http://alainet.org/active/15884&lang=es> (Consultado 13 de junio de 2013).
- Contreras, J. (2008). "Modernidad alimentaria: entre la sobreabundancia y la modernidad" en Sandoval, S. y M. J. Meléndez (coords.) Cultura y seguridad alimentaria: enfoques conceptuales, contexto global y experiencias locales. México, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Plaza y Valdez, 302 p.
- Chávez, A. *et al.* (1994). "Alimentación, nutrición y salud" en Doode y Pérez (comps.) Sociedad, economía y cultura alimentaria. México, CIESAS, CIAD, A.C. pp. 273–302.
- De Coster, (1985). Management Accounting Decision Emphasis, John Eiley Sons,inc.3ª.de New York, USA.
- Durning, A.T. (1992). Guardians of the land: Indigenous peoples and the health of the earth. Worldwatch Paper 112. Washington, DC, Worldwatch Institute
- Engelberger, L. (1999). Promotion of vitamin A-rich foods in Pohnpei, Federated States of Micronesia. Sight and Life Newsletter, 4: 13-17.
- Fediuk, K., Hidioglou, R., Madere, R. & Kuhnlein, H.V. (2002). Vitamin C in Inuit traditional food and women's diets. Journal of Food Composition and Analysis, 15(3): 221-235.
- Goering, B. (1993). Indigenous peoples of the world: An introduction to their past, present and future. Saskatoon, Saskatchewan, Canada, Purich.
- Kuhnlein, H.V. y Burgess S. (1997). Improved retinal, carotene, ferritin, and folate status in Nuxalk teenagers and adults after a health-promotion programme. *Food and Nutrition Bulletin*, 18 (2): 202-210.
- Kuhnlein, H.V. & Chan, H.M. (2000). Environment and contaminants in traditional food systems of Northern Indigenous Peoples. *Annual Review of Nutrition*, 20: 595-626.

- Kuhnlein, H.V. & Pelto, G. (1997). Culture, environment and food to prevent vitamin A deficiency. Tokyo, United Nations University, International Nutrition Foundation for Developing Countries.
- Kuhnlein, H.V. & Receveur, O. (1996). Dietary change and traditional food systems of Indigenous Peoples. *Annual Review of Nutrition*, 16: 417-442.
- Kuhnlein, H.V. & Soueida, R. (1992). Use and nutrient composition of traditional Baffin Inuit food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5: 112-126.
- Kuhnlein, H.V. (2000). Finding food sources of vitamin A and provitamin A. *Food and Nutrition Bulletin*, 21(2): 130-34.
- Kuhnlein, H.V. (2001). Progress report: Documenting traditional food systems of indigenous peoples in Asia. Rome, FAO.
- Kuhnlein, H.V., Chan, H.M., Legge, D. & Barthet, V. (2002). Macronutrient, mineral and fatty acid composition of Canadian Arctic traditional food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(5): 545-566.
- Liu, X.; Liu, S. & Lu, Y. (2012). Impact of Oleifera Powder on Nutritional and Function Properties of Wheat Flour Product. *Int. J. of Food Eng.* 8(3),2
- Marcu, G.M. (2005). El árbol de los milagros. Ed.kos health publications, 1ra ed., La Cañada, California. 24, 25, 170pp
- Moyo B., Masika, P., Hugo, A. y Muchenje, V. (2011). Caracterización nutricional de hojas de Moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(60), pp. 12925-12933,
- Ortega, M. I. y Valencia, M. (2002). "La alimentación sonorenses y su impacto en la salud" en Cuadernos de nutrición. Volumen 25, número 5, México, pp. 216-222.
- Palacios, M. y R. Román (1994). "Algunas reflexiones sobre estudios de patrones alimentarios y su relación con la salud" en Doode y Pérez (comps.) Sociedad, economía y cultura alimentaria. México, CIESAS, CIAD, A. C., pp. 329-346.
- Popkin, B.M., Horton, S.H. & Kim, S. (2001). The importance of the nutrition transition for health. In The nutrition transition and prevention of diet-related chronic diseases in Asia and the Pacific. *Food and Nutrition Bulletin*, 22(4) Special supplement: 22-5.
- Pries, L. (1996) El cambio industrial en la "sociedad del riesgo". Análisis empírico y reflexiones teóricas. Cuaderno de trabajo, México, UAM-I.
- Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., Devries, J.W. & Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: Collaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, (75):360-367.

- Puwastien, P., Raroengwichit, M., Sungpuag, P. & Judprasong, K. (1999). Thai food composition tables. Institute of Nutrition, Mahidol University (INMU) Thailand. Bangkok, Paluk Tai Co.
- Sánchez, M.I. (1988) "Seguridad alimentaria y estrategias sociales: su contribución a la seguridad alimentaria en áreas urbanas de América Latina" en Documento de discusión, número 23, Washington, D.C., Instituto Internacional de Investigaciones sobre Políticas Alimentarias, 23 p.
- Sánchez, P. y Martínez, A. (2013). *Moringa oleifera* . Importancia, funcionalidad y estudios involucrados. *Rev. Cientif. de la UAC*. 5(6):21-30.
- Sandoval, S.A. y Meléndez, M.J. (coord.) (2008) Cultura y seguridad alimentaria: enfoques conceptuales, contexto global y experiencias locales. México, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C., Plaza y Valdés, 302 p.
- Santana, M.E. y Meza, M.M. (2008) Niveles de arsénico en comunidades agrícolas de los valles del Yaqui y Mayo, Sonora, México. Instituto Tecnológico de Sonora [http://www.uaemex.mx/Red\\_Ambientales/docs/congresos/Ciudad%20Obregon/TOXICOLOGIA\\_Y\\_SALUD/TXA040.doc](http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/congresos/Ciudad%20Obregon/TOXICOLOGIA_Y_SALUD/TXA040.doc) (Consultado el día 11 de abril de 2014).
- SSA.Secretaría de Salubridad y Asistencia. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Diario Oficial de la Federación (DOF). 12 de diciembre de 1995.
- SSA Secretaría de Salubridad y Asistencia (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994. Diario Oficial de la Federación (DOF). 10 de mayo de 1995.
- Secretaría de Salud (2009). Situación actual de la epidemia. ([http://portal.salud.gob.mx/sites/salud/descargas/pdf/influenza/situacion\\_actual\\_epidemia\\_290509.pdf](http://portal.salud.gob.mx/sites/salud/descargas/pdf/influenza/situacion_actual_epidemia_290509.pdf)) (Consultado el 30 de mayo de 2013).
- Vaqueiro, C. (2000). "Las enfermedades emergentes transmitidas por alimentos" en *Cuadernos de nutrición*. Volumen 23, número 5, México, pp. 509–517.
- Vuong, L.T. (2000). Underutilized  $\beta$ -carotene-rich crops of Vietnam. *Food and Nutrition Bulletin*, 21(2): 173-181.
- Vuong, L.T., Dueker, S.R. & Murphy, S.P. (2002). Plasma  $\beta$ -carotene and retinol concentrations of children increase after a 30-d supplementation with the fruit *Momordica cochinchinensis* (gac). *American Journal of Clinical Nutrition*, 75: 872-879.

# **BIOTECNOLOGÍA**

## CAPÍTULO V

### EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE UN PRODUCTO BIORRACIONAL Y UN INSECTICIDA CONVENCIONAL SOBRE MOSCA BLANCA (*Bemisia tabaci*) EN EL CULTIVO DE SOYA EN EL VALLE DEL YAQUI

**Rendón Bojorquez, L.E.; Martínez Carrillo, J.L. y Gutiérrez Coronado, M.A.\***

Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 sur, Colonia Centro. Ciudad Obregón, Sonora México.

**Palabras clave:** biorracional, plaga, convencional.

#### INTRODUCCIÓN

La mosca blanca (*Bemisia tabaci*) (*Hemiptera: Aleyrodidae*), es una plaga polífaga, cosmopolita y de gran relevancia mundial sobre todo como vector de virus en numerosos cultivos. Este insecto está incluido en la posición 100 de las especies exóticas invasoras más dañinas del mundo, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (Lowe *et al.*, 2000).

Pertenecen a la familia *Aleyrodidae*, e incluyen un gran grupo de insectos con más de 1.200 especies, algunos son plagas agrícolas importantes de varios cultivos (Servín *et al.*, 2001), transmite virus de plantas extremadamente dañinos, y el proceso de alimentación de las ninfas y adultos inducen desordenes de crecimiento irregular en forma sistémica en los cultivos (Murillo y Martínez, 2006).

Tanto ninfas como adultos causan daño directo a la planta, al succionar la savia rica principalmente en aminoácidos y azúcares, así como por la secreción de melaza que propicia el desarrollo de hongos como fumagina (*Capnodium elaeophilum*) que dificulta la fotosíntesis y disminuye el vigor del hospedero, sin embargo, el daño más severo lo causan como vectores de virus (Ortega, 2008). Estos insectos fitófagos, con hábitos chupadores, se localizan en el envés de las hojas de las plantas hospederas (Ortega, 1992).

Desde 1991, la mosca blanca ha sido un serio problema de diversos cultivos en el Noroeste de México. Entre los cultivos más afectados están: algodónero; diferentes hortalizas como las cucurbitáceas en general; así como el ajonjolí y la soya. En 1994, el Norte de Sinaloa sufrió daños severos por esta plaga en los cultivos de tomate de cáscara, papa, tomate, calabaza y, sobre todo, en soya, cultivo del que se rastrearon 5 mil 664 hectáreas (ha), de 45 mil 329 establecidas, por el daño provocado por mosca blanca como insecto fitófago (Cortez *et al.*, 2005).

En 1997, en el Sur de Sonora, como consecuencia del riesgo que significaba su elevada presencia poblacional, se optó por no establecer el cultivo, sólo se establecieron 20 ha con propósitos experimentales (Grundy *et al.*, 2000).

A partir de 1999, con la creación de grupos de seguimiento para la campaña contra la mosca blanca a nivel regional (Pacheco, 1998) y con el establecimiento de diferentes medidas para reducir el riesgo

de altas poblaciones del insecto plaga, fue posible reanudar la explotación de la soya en condiciones de producción prácticamente “normales” en cuanto al ataque del hemíptero mencionado.

En el Valle del Yaqui, Sonora, se detectó desde el inicio del año 2005, que las poblaciones de mosca blanca eran muy superiores a las observadas en años anteriores, en las trampas amarillas colocadas en todo el valle para el monitoreo de la plaga. Estos datos se hicieron del conocimiento de los productores, indicando que se podrían presentar problemas serios en algodónero y otros cultivos que se tenían establecidos en el Valle del Yaqui, como de hecho ocurrió (Martínez y Pacheco, 2005).

Debido a los serios daños sufridos en diversos cultivos en Sonora, en ese año, se decidió establecer una estrategia de manejo de mosca blanca que permitiera reducir las poblaciones de la plaga y hacer costeable la producción agrícola regional mediante un manejo integrado de plagas y uso racional de plaguicidas con el objetivo de mitigar los brotes de mosca blanca y mantener la producción agrícola rentable en la región (Martínez y Pacheco, 2005).

Generalmente cuando se tiene un problema de plagas se recurre al uso indiscriminado de plaguicidas, siendo ésta, la estrategia más común en la agricultura para su control, debido a su rápida acción, amplio espectro y persistencia en el entorno; lo que a su vez ocasiona serios daños al medio ambiente, la salud de los trabajadores expuestos a estos productos y la población de las zonas urbanas hasta donde llegan por acarreo estos productos. Debido a lo antes mencionado, se hace necesario buscar alternativas de control de plagas que sean compatibles con el manejo integrado y tiendan a reducir los problemas ocasionados por los insecticidas convencionales.

Aun cuando el empleo de insecticidas químicos convencionales para el control de insectos plagas se considera hasta hoy, como el método más efectivo para mantener las poblaciones a niveles no perjudiciales, actualmente su uso resulta impráctico, debido, entre otras razones, al desarrollo de poblaciones resistentes, a la presencia de residuos inherentes a su uso y a las fuertes restricciones comerciales que prevalecen (Morales *et al.*, 2006).

El proceso de resistencia es el principal responsable de la “necesidad” de incrementar continuamente la cantidad de químicos, siendo la acción más cómoda para mantener bajo control a determinada plaga, sin embargo, el abuso en la utilización de estos productos, ha provocado la resistencia en los insectos con lo que ha sido necesario el empleo de dosis cada vez mayores, incrementándose así los efectos negativos para el medio ambiente y los riesgos para la salud humana (Whalom y Norris, 1999).

Lo anterior representa la parte fundamental de un círculo vicioso, que en innumerables ocasiones ha llevado al abandono de cultivos en diversas regiones agrícolas, por el incremento exponencial de los costos del combate químico. Desafortunadamente el problema de la resistencia no se puede evitar, y menos en poblaciones que presentan ciclos tan cortos, como es el caso de *B. tabaci*.

El control químico con insecticidas convencionales no ha sido una solución a la problemática ocasionada por esta plaga, a pesar de que ha ayudado a reducirla cuando se aplica en combinación con otras estrategias de manejo, como fecha de siembra oportuna, rotaciones con gramíneas, variedades tolerantes y control biológico (Martínez, 1994).

Una alternativa al uso de los insecticidas químicos convencionales utilizados para el combate de plagas, son los insecticidas biorracionales, los cuales son sustancias activas derivados de microorganismos, plantas o minerales; también son moléculas sintéticas y análogas a las naturales, que se caracterizan por tener algún efecto favorable en las plantas en las que se usan y un efecto desfavorable en insectos plaga y patógenos que causan enfermedades (insecticida, repelente, disuasivo, inhibición, retardo en el desarrollo) (Eiras y Resende, 2009). Pero invariablemente no deben tener toxicidad en humanos y otros vertebrados, además de un reducido o nulo impacto en la fauna benéfica presente en los cultivos.

La soya es un cultivo de gran importancia a nivel mundial; desafortunadamente en el Valle del Yaqui, la mosca blanca *Bemisia tabaci* Biotipo B, causó la práctica eliminación de soya dentro del patrón de cultivos en 2005, debido a los serios daños ocasionados a este cultivo.

Actualmente se ha incrementado la superficie de siembra, en parte por la estrategia de manejo establecida en la región, los precios en el mercado internacional y la captación de agua que se tiene en las presas de esta región. Durante el ciclo 2015, se establecieron en el Valle del Yaqui 24,737 hectáreas de este cultivo.

Aunque la mosca blanca se encuentra en densidades bajas sigue representando un problema potencial para este y otros cultivos en la región. El combate de esta y otras plagas que atacan la soya aumentan los costos de producción debido a la aplicación de productos fitosanitarios como son los insecticidas, fungicidas y herbicidas principalmente.

El endosulfán es un insecticida y acaricida organoclorado de amplio espectro para el control de plagas agrícolas en una variedad de cultivos, que actúa por contacto e ingestión, se compone de dos isómeros estereoquímicos,  $\alpha$ -endosulfán y  $\beta$ -endosulfán en concentraciones aproximadas de 70 % y 30 %, respectivamente. La OMS lo clasifica como moderadamente peligroso (II) y la EPA como altamente tóxico (I); también posee efectos tóxicos crónicos y es un disruptor endocrino. Tiene una alta persistencia ambiental, extremadamente persistente en suelo y una bioacumulación alta (Ivens, 1991).

Es uno de los productos que ha sido más ampliamente utilizado en México, especialmente en la región del noroeste, para el control de mosca blanca. Este producto tiene un costo relativamente bajo en comparación con otros productos sintéticos convencionales y es considerado como un producto "amistoso" a los insectos benéficos (Stevensen, 1993). Teniendo en cuenta esta creencia, este insecticida se ha utilizado generalmente sin restricción.

Debido a las graves consecuencias que trae consigo la utilización de endosulfán para la salud de las personas, fauna benéfica, vida silvestre y para la conservación de la calidad de recursos como agua, suelo, aire, actualmente varios países han retirado de su mercado el endosulfán por las distintas amenazas que representa para la salud y el ambiente

Afortunadamente a través de los años se han investigado distintas posibilidades para solucionar el problema y una de las alternativas más factibles ha sido la creación de insecticidas orgánicos que han tomado importancia debido a su efectividad, a su poca contaminación del ambiente, a la facilidad de su preparación y a su bajo costo (Gispert, 2001).

Los productos biorracionales se utilizan en el control de plagas debido a que sus principios activos tienen el efecto de repeler o matar a los insectos plaga, los extractos vegetales constituyen una opción, ya que no causan daño al ambiente.

El BioDie® es un producto a base de Argemonina 3.5 % + Berberina 2.20 % + Ricinina 2.8 % y Alfaterthienil 3.5 %; también contiene aceite vegetal. Es un insecticida orgánico en forma de suspensión acuosa; la acción insecticida se ejerce a través de un grupo de componentes orgánicos con diferentes modos de acción, por lo que se evita la resistencia cruzada con insecticidas. Está recomendado para el control de larvas, ninfas y adultos, en cualquier instar, de insectos que se alimentan succionando savia o líquidos celulares, así como de aquellos que dañan tejidos y defoliar las plantas, traspasa fácilmente la cutícula de los insectos afectando el sistema nervioso central y periférico, ocasionando convulsiones, tetanización de músculos y muerte del insecto. Presenta efecto de *knock down* que hace que el insecto apenas entre en contacto con el producto, deje de alimentarse y se paralice (Ultraquimia, 2009).

Debido a lo anteriormente mencionado, este estudio tuvo como objetivo evaluar la efectividad biológica de dos insecticidas, uno biorracional y otro convencional a nivel semicomercial. Determinando el impacto de productos a base de extractos orgánicos como es el BioDie® como una opción agronómica eficiente para el manejo integrado de plagas y el control de mosca blanca en el cultivo de soya.

## METODOLOGÍA

Para observar la efectividad biológica de los tratamientos insecticidas contra mosca blanca *B. tabaci* biotipo B, se estableció una parcela demostrativa en el Block 1408 del Valle del Yaqui, coordenadas 27°16'49.32 y 109°56'00.60'' a 28 msnm. Este predio está ubicado cerca de la comunidad de Quetchehueca, Sonora.

El cultivo que se seleccionó fue soya de la variedad Suaqui, con fecha de siembra del 16 de mayo de 2014 y manejo agronómico general del productor cooperante. Las parcelas demostrativas fueron divididas con tratamientos en franjas, constando con una superficie de media hectárea cada una de ellas.

Los tratamientos fueron aplicados en estas parcelas y los muestreos se realizaron a lo largo de ellas. Los tratamientos que se evaluaron fueron 2 insecticidas, un producto biorracional, BioDie® 2 L/ha y un orgánico sintético Veldosulfan 35 CE® (Endosulfán) 2 L/ha. Además se dejó una franja sin aplicación como testigo absoluto. El diseño experimental utilizado fue jerárquico o anidado.

Se realizaron dos aplicaciones de insecticidas, con un intervalo de cinco días entre ellas, estas se llevaron a cabo con una aspersora colocada en un tractor, aplicando 400 litros de solución por hectárea. El agua utilizada se preparó con INEX-A® el cual es un surfactante no iónico con un amplio poder de humectación (penetración) y dispersión, que sirve como coadyuvante en las aplicaciones de agroquímicos en general. Se buscó obtener una solución con un pH de 6.3 a 7.0 en el insecticida biorracional y 5.3 en el tratamiento con el insecticida orgánico sintético.

Para realizar la aplicación primero se calibró el equipo de aspersión y la velocidad del tractor, para determinar el volumen de mezcla a aplicar en cada una de las franjas para cada tratamiento. Se revisó que el equipo estuviera completo, en buen estado y bien montado sobre tractor, se llenó con agua el tanque, las mangueras y el aguilón; se inició la aspersión con una presión baja y se aumentó gradualmente hasta que los abanicos de aspersión lograron entrecruzarse y lograr el objetivo de un buen cubrimiento del follaje de las plantas tratadas.

Se revisó que todas las boquillas estuvieran a la misma distancia una de otra en el aguilón, tuvieran el mismo gasto y ángulo de aspersión de aproximadamente 10° respecto al aguilón. Se midió el tiempo que empleó el tractor en recorrer 100 metros, en el mismo predio donde se encontraba el cultivo, ajustando la velocidad entre 4 y 6 kilómetros por hora. Esta operación se repitió tres veces, para así determinar el tiempo promedio empleado y lograr una buena calibración del equipo. La cantidad de solución aplicada resultó ser de 400 litros por hectárea.

Antes de agregar los insecticidas al agua que se usó en la mezcla de aspersión, se verificó la calidad de ésta, revisando su alcalinidad, utilizando un potenciómetro de la marca Hanna Instruments con lecturas de pH y conductividad eléctrica. Finalmente, se agregaron los componentes de la mezcla al depósito y cuando se encontró homogénea, se procedió a realizar de nuevo una estimación del pH, para luego proceder a la aspersión del insecticida, tomando en cuenta las debidas precauciones de protección y utilizando el equipo adecuado recomendado para la aplicación de insecticidas (overol, mascarilla y guantes, principalmente).

Varios métodos de muestreo para el género *Bemisia* han sido implementados para propósitos de investigación y manejo en cultivos afectados por esta plaga. En la presente investigación se utilizó el método de muestreo mediante inspección de hojas, este tipo de muestreo consiste en la inspección visual de las hojas de un determinado cultivo y permite un conteo absoluto de esta plaga. Debido a que los huevecillos y ninfas de mosca blanca son sésiles, este es el único método de muestreo disponible para estimar densidades poblacionales de estados inmaduros, sin embargo, también puede ser utilizado para adultos, en investigaciones donde se requiera un alto grado de precisión.

Los muestreos consistieron en contar el número de adultos de mosca blanca presentes en el trifolio medio de 100 hojas de la parte superior de la planta de soya en cuatro puntos a lo largo de la franja y para las ninfas se recolectaron 50 trifolios de la parte media baja de la planta en cuatro puntos al igual que para adultos, para contabilizar ninfas por medio de lupa estereoscópica en el laboratorio. Se realizó un muestreo previo a la primera aplicación y a los 3 y 5 días después, luego se aplicó de nuevo y se llevaron a cabo muestreos a los 3, 5, y 7 días después de esta segunda aplicación.

Los datos de cada uno de los muestreos se analizaron estadísticamente a través de un análisis de varianza para determinar diferencias significativas en las densidades de adultos y ninfas de *B. tabaci* entre tratamientos y en caso de existir diferencias significativas se realizó la comparación de medias de tratamiento por la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), (Statgraphics 7).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los datos de la evaluación contra adultos de mosca blanca en el Valle del Yaqui, Sonora se muestran en la tabla 1. Las poblaciones al inicio de la evaluación fueron altas con promedio de 19.06 adultos

por trifolio en los tres tratamientos. En el tratamiento con endosulfán se detectaron 19.60 adultos por trifolio y para el tratamiento con el insecticida BioDie® 18.60 adultos por trifolio y 18.99 en el testigo sin aplicación.

Posterior a la primera aplicación las poblaciones se redujeron considerablemente en todos los tratamientos incluyendo al testigo, esto en parte se debió a que se presentaron lluvias y vientos fuertes durante el desarrollo del experimento.

El muestreo realizado tres días después de la primera aplicación indicó una reducción de la población en todos los tratamientos en comparación al muestreo previo. El análisis de varianza resultó en diferencia significativa entre tratamientos y la comparación de medias señaló que el tratamiento testigo fue diferente de los otros dos tratamientos (tabla 1).

A los cinco días después de la primera aplicación el análisis de varianza indicó diferencia significativa entre tratamientos, y en la comparación de medias resultó que el tratamiento con BioDie® tenía la más baja densidad de población de adultos de mosca blanca (tabla 1).

Los datos de muestreo a los tres días después de la segunda aplicación no mostraron diferencia significativa entre los tratamientos. Sin embargo la densidad de población se mantenía más alta en el tratamiento testigo.

En el muestro realizado a los cinco días después de la segunda aplicación el análisis de varianza indicó diferencia significativa entre tratamientos siendo diferente el testigo a los tratamientos con insecticida (tabla 1).

El análisis de varianza para los datos del muestreo realizado siete días después de la segunda aplicación, indicó diferencia significativa entre tratamientos siendo el testigo el de mayor media poblacional (tabla 1).

El promedio general de los cinco muestreos posteriores a las dos aplicaciones realizadas no muestra diferencia significativa entre los tratamientos incluyendo al testigo sin aplicación. Sin embargo la reducción en la densidad de la población de mosca blanca fue notable ya que del promedio encontrado en el muestreo previo (19.06) se redujo a un promedio de 2.7 adultos por trifolio. Esto representa el 86.08 % de reducción de la población. En general todos los muestreos indicaron mayor número de adultos de mosca blanca en el tratamiento testigo.

El insecticida BioDie® ha sido utilizado para el control de insectos chupadores, al respecto se reporta en un estudio realizado en el cultivo de limón persa en el Estado de Veracruz., que la eficiencia del insecticida botánico BioDie® para controlar adultos de *D. citri* fue del 58 % al 95 %, cuando se usó una dosis de 1.0 L·ha<sup>-1</sup>; lo que se asemeja a los datos encontrados en las evaluaciones del producto en esta investigación (Díaz, 2008).

El producto biorracional BioDie® en el 2007 con aplicaciones de 1.5 L·ha<sup>-1</sup> obtuvo un control sobre mosca blanca de un 60 % de efectividad en la primera evaluación, sin embargo en las siguientes evaluaciones de 2.0 L·ha<sup>-1</sup> obtuvieron niveles de control del 80 %, resultado que se asemeja al de la presente investigación. En el 2008, identificaron que BioDie® a 1.5 y 2.0 L·ha<sup>-1</sup> controló adultos de paratíozoa (*Bactericera cockerelli* Sulc.) entre el 47.1 % y 89.4 % de efectividad respectivamente. Con

la aplicación de 1.5 y 2.0 L·ha<sup>-1</sup> el control de ninfas del insecto fue de 78.4 9% y 94.73 %, respectivamente (Solís *et al.*, 2007).

**Tabla 1. Datos del número de adultos de mosca blanca, *B. tabaci* Biotipo B, en cada uno de los muestreos realizados y promedio después de la aplicación de los tratamientos para evaluar la efectividad biológica contra esta plaga. Valle del Yaqui, Sonora. 2014.**

Tratamiento	Dosis	Previo	3DDA	5DDA	3DD2A	5DD2A	7DD2A	Promedio
Endosulfán	2 L/ha	19.60a	1.44a	4.51ab	1.94a	1.47a	1.54ab	2.18a
BioDie®	2 L/ha	18.60a	2.44a	3.68a	1.60a	2.25ab	1.07a	2.21a
Testigo	0 L/ha	18.99a	4.94b	6.29ab	2.16a	2.80b	1.61ab	3.56a

DDA: Días después de aplicación. Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Con respecto a las ninfas de mosca blanca, los datos mostraron que no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados incluyendo al testigo sin aplicación, a excepción del muestreo realizado a los siete días después de la segunda aplicación en el cual se detectó diferencia contra el tratamiento de BioDie®.

El muestreo realizado tres días después de la primera aplicación indicó una reducción de la población en todos los tratamientos en comparación al muestreo previo. El análisis de varianza resultó en diferencia significativa entre tratamientos y la comparación de medias señaló que el tratamiento testigo fue diferente de los otros dos tratamientos, siendo éste el que presentó una mayor población de ninfas (tabla 2).

A los cinco días después de la primera aplicación el análisis de varianza indicó diferencia significativa entre los tratamientos de BioDie® y endosulfán, y en la comparación de medias resultó que el tratamiento con BioDie® tenía la más alta densidad de población de ninfas de mosca blanca (tabla 2).

Los datos de muestreo a los tres días después de la segunda aplicación mostraron diferencia significativa entre los tratamientos de endosulfán y BioDie®, resultando el tratamiento de endosulfán con una menor población a diferencia del tratamiento de BioDie®. Sin embargo la densidad de población se mantenía más alta en el tratamiento testigo.

En el muestro realizado a los cinco días después de la segunda aplicación el análisis de varianza indicó una reducción de la población en todos los tratamientos resultando el testigo con una media poblacional más alta a diferencia de los dos tratamientos (tabla 2).

El análisis de varianza para los datos del muestreo realizado siete días después de la segunda aplicación, indicó diferencia significativa entre tratamientos de BioDie® y endosulfán siendo el tratamiento de BioDie® el de mayor media poblacional (tabla 2).

El promedio general no indica un cambio significativo en la reducción de la población de este insecto en comparación con el muestreo previo. Todos los tratamientos se comportaron de la misma forma (tabla 2).

Díaz y col. (2005), propusieron el uso de productos biorracionales y entomopatógenos, debido a que las aplicaciones con endosulfán ( $2.0 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), fueron tan efectivas como las de productos biorracionales para suprimir las poblaciones de ninfas, resultados que se asemejan a la presente investigación, sin embargo los productos biorracionales han sido menos dañinos a fauna benéfica, en comparación a los insecticidas convencionales que no solo atentan contra la fauna benéfica si no que pueden generar el resurgimiento de plagas o inducir la aparición de razas resistentes.

En investigaciones relacionadas con el impacto de productos biorracionales en fauna benéfica se demostró que los insecticidas biorracionales AgroSoap Plus® y BioDie® no causaron mortalidad alguna sobre crisopa (*Chrysopa perla*), depredador que se caracteriza por ser utilizado en el control biológico de plagas, por el contrario el insecticida convencional Bifentrina (Talstar®) mató el 100% del depredador. Por lo tanto el insecticida biorracional BioDie® puede utilizarse para control de plagas sin temor de causar el abatimiento de la población de insectos benéficos (Pérez *et al.*, 2011).

**Tabla 2. Datos del número de ninfas de mosca blanca, *B. tabaci* Biotipo B, en cada uno de los muestreos realizados y promedio después de la aplicación de los tratamientos para evaluar la efectividad biológica contra esta plaga. Valle del Yaqui, Sonora. 2014.**

Tratamiento	Dosis	Previo	3DDA	5DDA	3DD2A	5DD2A	7DD2A	Promedio
Endosulfán	2.0 L/ha	11.84a	7.36a	7.78a	12.68a	3.18a	10.24a	8.248a
BioDie®	2.0 L/ha	10.58a	8.84a	10.22a	17.10a	3.92a	27.1b	13.436a
Testigo	0.0 L/ha	10.48a	10.36a	9.72a	17.50a	5.08a	11.02a	10.736a

DDA: Días después de aplicación. Valores con diferente letra en una columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Estudios sobre el efecto de endosulfán en la fecundidad y fertilidad en crisópidos indican que reducen e inhiben la mortalidad de este insecto depredador considerado como fauna benéfica y utilizado como método de control biológico para el control de insectos plaga (Jones *et al.*, 1998).

En estudios anteriores se detectaron altos retrasos en la letalidad de crisópidos al ser expuestos a endosulfán (Rimoldi *et al.*, 2008). Anteriormente se han reportado informes de alerta sobre los diferentes niveles de toxicidad del endosulfán en insectos benéficos (Grundy *et al.*, 2000).

El producto BioDie® ha sido reportado como efectivo para el control de mosca blanca y por ser de origen botánico tiene menor impacto en la fauna insectil benéfica. Por lo tanto puede ser una buena alternativa para el control de esta plaga.

El insecticida endosulfán ha sido ampliamente utilizado para control de mosca blanca, por lo que se considera puede haberse desarrollado resistencia a este producto, el cual además será retirado del mercado por diversos problemas que ocasiona.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta evaluación el producto biorracional BioDie® resultó estadísticamente igual al insecticida convencional endosulfán para reducir las poblaciones de adultos y ninfas de mosca blanca. Sin embargo es importante considerar que el BioDie® es menos dañino al medio ambiente y a los organismos benéficos que controlan la mosca blanca por lo que es una buena alternativa para el control de esta plaga, ya que una mala selección de productos o el abuso de los mismos, propician problemas de contaminación y resistencia que en un futuro terminan complicando la problemática de las plagas que afectan los cultivos.

## REFERENCIAS

- Cortez, M.E., Rodríguez, C.F.G., Martínez C.J.L. y Macias, C.J. ( 2005). Tecnología de producción y manejo de la mosca blanca de la hoja plateada en el cultivo de soya en el Norte de Sinaloa. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico Núm. 25. Los Mochis, Sinaloa, México. 52 p.
- Díaz, G.O., Tejeda M., E. I. y Ávalos, A.L. ( 2005). Efecto de insecticidas biorracionales y mezclas de hongos sobre *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Homóptera: Psyllidae). *Entomología Mex.* 5: 539-541.
- Díaz, Z.U.A. (2008). Estudio de evaluación de efectividad biológica del BioDie®, prograníc® cinnacar y prograníc® nimicide 80 para controlar plagas en limón persa (*Citrus latifolia* Tan.). INIFAP-Campo Experimental Ixtacuaco. Tlapacoyan, Ver. p 96.
- Eiras, A.E. y Resende, M.C. (2009). Preliminary evaluation of the “Dengue-MI” technology for *Aedes aegypti* monitoring and control. *Cad. Saúde Pública* 25(1): S45-S58.
- Gispert, C. (2001). El mundo de la Ecología. Editorial Océano. España. Pp. 288-292.
- Grundy, P.R., Maelzer, D., Collins, P.J. & Hassan, E. (2000). Potential for integrating eleven agricultural insecticides with the predatory bug *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Econ. Entomol.* 93: 584-589.
- Ivens, G.W. (1991). The UK Pesticide Guide. CAB International and British Crop Protection Council. Wallingford. 580 p.
- Jones, W.A., Clomperlik, M.A. & Wolfenbarger, D.A. (1998). Lethal and sublethal effects of insecticides on two parasitoids attacking *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Biol. Control* 11: 70-76.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. y De Poorter, M. (2000). 100 de las Especies Exóticas Invasoras más dañinas del mundo. Una selección del Global Invasive Species Database.

- Martínez C., J.L. (1994). Problemática fitosanitaria causada por la mosquita blanca en México. Memoria de la segunda asamblea anual de CONACOFI. DGSV-SAGAR. Montecillo, Edo de México. Pp. 77-88.
- Martínez C., J.L. y Pacheco, J.J. (2005). Dinámica poblacional de mosquita blanca en el Valle del Yaqui, Sonora, México. En: Memoria día del productor 2005. INIFAP, Centro de Investigación Regional del Noroeste Campo Experimental del Valle del Yaqui, Sonora, México. Publicación Especial No. 12, 52-54.
- Morales, F.J., Cardona, C., Bueno, J.M. y Rodríguez, I. (2006). Manejo integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por mosca blanca. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Colombia. Pp. 1-24.
- Murillo A., A.T. & Martínez C., J.L. (2006). Stability of insecticide resistance of silverleaf whitefly (Homoptera: *Aleyrodidae*) in the absence of selection pressure. *Folia Entomol. Mex*, 45(1), 27-34.
- Ortega, A.L.D. (1992). Mosquitas blancas (Homóptera: *Aleyrodidae*) vectores de virus en hortalizas. En: Manejo fitosanitario de las hortalizas en México. México D. F: Colegio de postgraduados/ SARH, 20-40.
- Ortega, A.L.D. (2008). Biología de las moscas blancas. En: moscas blancas: temas selectos sobre su manejo. México, D. F: Mundi Prensa México, S. A. de C.V. (a): 1-6.
- Pacheco C., J.J. (1998). Conceptualización y organigrama de la campaña contra la mosquita blanca de la hoja plateada (*Bemisia argentifolii* Bellows & Perring). En: Pacheco C., J.J., y Pacheco M., F. (comps). Temas selectos para el manejo integrado de la mosquita blanca. Memoria Científica Núm. 6. INIFAP-CIRNO. Cd. Obregón, Son. Pp 149 – 154.
- Pérez, J., Cortez, E., Medina, H.M. y Velarde, S. (2011). Efectividad biológica de productos biorracionales contra *Diaphorina citri* en el centro de Sinaloa en *Avances de Investigación del CEVACU 2010*. Publicación especial no. 13. Enero de 2011. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias. Centro Experimental de Investigación Regional del Noroeste. Campo Experimental Valle de Culiacán.
- Rimoldi, F., Schneider, M.I. & Ronco, A.E. (2008). Susceptibility of *Chrysoperla externa* eggs (Neuroptera: *Chrysopidae*) to conventional and biorational insecticides. *Environ. Entomol.* 37: 1252-1257.
- Servín V., R., Troyo D., E. & Martínez C., J. L. (2001). Wild hosts of *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring in semiarid Northwest Mexico. *Southwestern Entomologist*, 26: 239-243.
- Solís A., J.F., Medina M., E. y Tovar H., H. (2007). BioDie®, un bioinsecticida para el control de *Bemisia tabaci* Genn. (Homóptera: *Aleyrodidae*) en el cultivo de papa en Metepec, Estado de México. Agricultura Sostenible Vol.3. Substancias naturales contra plagas. Sociedad mexicana de agricultura sostenible, A.C. Colegiode Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. Pp. 102-107.

Stevensen, P. (1993). Eight years later, industry advertising still violates FAO code. Global Pesticide Campaigne.

Ultraquimia. (2009). Catálogo de productos. Manejo Integrado de Plagas. Promotora Técnica Industrial, S.A. de C.V. Juitepec, Morelos, México. 30p.

Whalon, M.E. & Norris, D.L. ( 1999). Field management: Delivery of new technologies to growers. *In*: F. R. Hall y J.J. Menn (Eds.). Use and Delivery. Franklin R. Hall y Julius J. Menn. Editorial Human press.

## CAPÍTULO VI

### PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS INDÓLICOS EN AISLADOS MICROBIANOS DEL SUELO RIZOSFÉRICO Y SIN CULTIVO ASOCIADOS AL TRIGO EN EL VALLE DEL YAQUI, SONORA

Ibarra Villarreal, A.<sup>1</sup>; Valenzuela Aragón, B.<sup>1</sup>; Lugo Enríquez, C.<sup>1</sup>; Villa Rodríguez, E.<sup>1</sup> y de los Santos Villalobos, S.<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Sonora 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro, Ciudad Obregón, Sonora, México.

<sup>2</sup>Catedrático CONACYT- Instituto Tecnológico de Sonora. \*sergio.delossantos@itson.edu.mx

**Palabras clave:** ácido indol acético, estrés abiótico, promoción de crecimiento vegetal.

#### INTRODUCCIÓN

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es el tercer cereal más producido en el mundo y el segundo en México, donde la producción nacional se estima en  $3.2 \times 10^6$  ton año<sup>-1</sup> (SAGARPA, 2014). Esta producción se concentra en un 48% ( $1.4 \times 10^6$  ton año<sup>-1</sup>, con un rendimiento promedio de 6 ton ha<sup>-1</sup>) en el Valle del Yaqui, ubicado en el estado de Sonora (Financiera rural, 2009; Cortés *et al.*, 2011). La importancia del trigo radica en su uso tanto en la alimentación humana como animal, debido a su alto contenido de gluten (80%) -glicoproteínas como gliadina y glutenina- determinante para su capacidad viscoelástica, permitiendo su incorporación en pan, pasta, galletas y otros productos de alto valor nutricional (Shewry, 1999). Además, este cereal contiene aminoácidos esenciales, vitaminas, minerales, fibra y otros fitoquímicos benéficos en la dieta humana.

En los últimos años la producción de trigo en el Valle del Yaqui se ha visto impactada negativamente por diversos factores, tales como: a) ambientales (altas temperaturas), b) culturales (métodos de labranza, fertilización excesiva, control ineficiente de plagas y enfermedades) y c) edáficos (baja fertilidad y salinidad incrementada); siendo uno de los más importantes el manejo de la baja fertilidad de los suelos a través del uso excesivo de fertilizantes sintéticos (*i.e.* N(263 kg/ha), P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(120 kg/ha) y K<sub>2</sub>O (60 kg/ha)) con el objetivo de garantizar el buen desarrollo de este cultivo (Castellanos *et al.*, 2005; Mohammadi, 2011). Sin embargo, esta aplicación excesiva ha generado diversos daños al agro-sistema, destacando el incremento de la generación de gases efecto invernadero, contaminación de mantos acuíferos y el desequilibrio ecológico en el suelo, caracterizado por la baja disponibilidad de nutrientes (C, N, P y K) (Lara *et al.*, 2011; Mohammadi, 2011).

Actualmente, la creación y/o innovación de alternativas para mejorar la producción sostenible de los cultivos agrícolas, minimizando los costos económicos y ambientales (agua, suelo y atmósfera) es determinante para incrementar la seguridad alimentaria a nivel mundial. De esta manera, el uso de microorganismos promotores de crecimiento vegetal (MPCV) ha sido estudiado en todo el mundo como una alternativa ecológica para coadyuvar a un mayor rendimiento de manera amigable con el medio ambiente (Rives *et al.*, 2009; do Vale Barreto *et al.*, 2010). Estos MPCV se caracterizan por establecer una relación simbiótica con las raíces de las plantas resultando en un incremento en la absorción y disponibilidad de nutrientes para éstas, y con ello, lograr incrementar el rendimiento y calidad de los cultivos (Lara *et al.*, 2011; Saharan y Nehra 2011). Entre los principales mecanismos por

los cuales los MPCV han sido estudiados para su potencial aplicación en el sector agrícola destacan los mecanismos directos e indirectos, los indirectos, se caracterizan por contribuir en la inducción de la respuesta sistémica en las plantas contra fitopatógenos, debido a la producción de antibióticos o metabolitos con acción antimicrobiana (producción de sideróforos o enzimas líticas) (do Vale Barreto *et al.*, 2010; Camelo *et al.*, 2011; Ahemad y Kibret, 2014). Los mecanismos directos, influyen de manera positiva en las plantas, debido a la excreción de sustancias fitoestimuladoras por los microorganismos, dentro de las cuales destacan los compuestos orgánicos volátiles, ácido jasmónico, ácido salicílico y fitohormonas (auxinas y las citocininas) (Rojas *et al.*, 2013). Éstos últimos, son compuestos que actúan como mensajeros químicos encargados de transportar y regular la expresión de genes relacionados con el desarrollo y crecimiento de las plantas, así como en el comportamiento y respuesta a cambios en el medio ambiente (Aguilar *et al.*, 2008). Por ejemplo, el ácido indol acético (AIA), la auxina más estudiada, se encuentra relacionada con el desarrollo celular y procesos fisiológicos de las plantas, tales como: el incremento en el tamaño del xilema, fototropismo, fluorescencia, gravitropismo, incrementos en la producción de exudados y el desarrollo de raíces (Ahemad y Kibret, 2014). La producción de origen microbiano de esta fitohormona se encuentra ligada a 4 rutas metabólicas, las cuales utilizan el triptófano como precursor: la ruta del ácido indol-3-piruvato (IPyA), la ruta de la triptamina, la ruta del indol-3-acetamida y la ruta indol 3-acetonitrilo (Camelo *et al.*, 2011), de manera similar existen rutas independientes del triptófano, sin embargo, éstas rutas son más importantes en plantas (Aguilar *et al.*, 2008).

A nivel fisiológico, la producción de AIA por las plantas y los microorganismos es de gran importancia para su interacción con los factores bióticos y abióticos del agro-sistema. Sin embargo, estos factores perturban sus hábitats naturales y nichos ecológicos generando diversos tipos de estrés (térmico, hídrico, concentración incrementada de CO<sub>2</sub>, radiación solar, salinidad, nutrimental, y la presencia de compuestos tóxicos), causando variaciones en la producción de esta fitohormona (Glick, 2012). El Valle del Yaqui se caracteriza por el contenido limitado de materia orgánica, un clima semiárido, baja precipitación y aplicación excesiva de fertilizantes químicos, conduciendo a la degradación y desertificación de los suelos, lo cual potencia cambios significativos en la comunidades microbianas durante el ciclo de producción agrícola (noviembre – mayo) y en ciclo sin cultivo (junio-octubre, caracterizado por temperaturas incrementadas, estrés hídrico y ausencia de cobertura vegetal en los suelos).

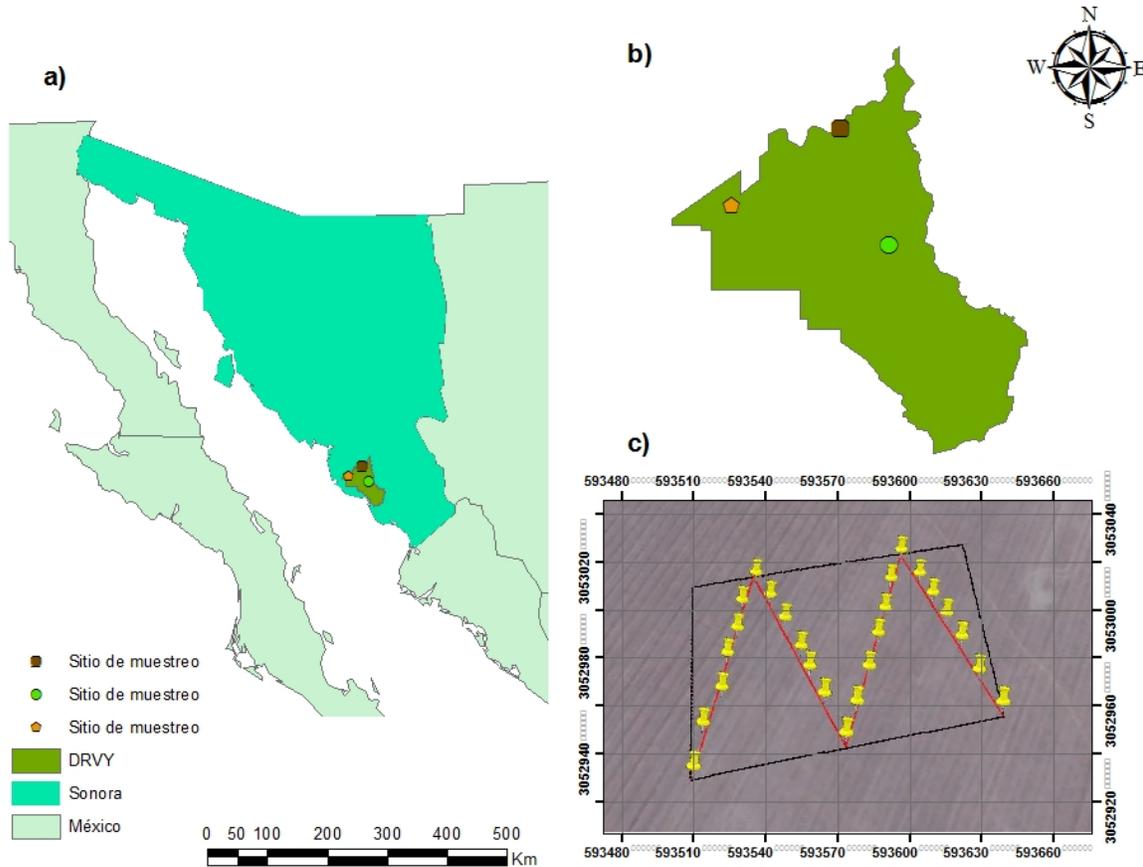
En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue cuantificar las comunidades microbianas edáficas (rizosféricas y en suelo sin cultivo) del Valle del Yaqui, a través de técnicas dependientes de cultivo, y cuantificar la producción de indoles por estos microorganismos – (mediante el método Salkowski), con la finalidad de identificar cepas microbianas con el potencial para promover el crecimiento de este cultivo, bajo las condiciones de estrés observados en esta región.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El área de estudio (figura 1 a y b) se encuentra localizada en el Valle del Yaqui, Sonora (entre los 108° 53' y 110° 37' de longitud oeste, y 26° 53' y 28° 37' de latitud norte). Las muestras de suelo fueron colectadas de parcelas agrícolas destinadas a la producción de trigo. La colecta de muestras se llevó a cabo en dos condiciones distintas: a) suelo rizosférico del cultivo de trigo y b) suelo sin cultivo. La metodología empleada para el muestreo del suelo se llevó a cabo de acuerdo a lo reportado por SAGARPA & Servicio Nacional de Sanidad (2015), utilizando el método de muestreo en “zig-zag” en un

área base de 1 ha (figura 1 c). Un total de 25 muestras fueron obtenidas a una profundidad de 30 cm, para cada sitio de muestreo, resultado de la colecta de muestras por cada diagonal de muestreo, obteniéndose así un total de 4 muestras compuestas.

## MACROLOCALIZACIÓN DE SITIOS DE MUESTREO EN EL VALLE DEL YAQUI



**Figura 1. Macrolocalización de los sitios de muestreo en el Valle del Yaqui Sonora, a) Localización del Valle del Yaqui en el Estado de Sonora b) Localización sitios de muestreo dentro del Valle del Yaqui y c) Diseño de muestreo del suelo.**

### Aislamiento de microorganismos del suelo rizosférico y del suelo sin cultivo

El aislamiento de las comunidades microbianas edáficas se realizó mediante técnicas dependientes de cultivo, para lo cual 10.0 g de cada una de las muestras compuestas de suelo fueron colocadas en un matraz Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 90 mL de agua destilada estéril, agitándose durante 1 hora a 150 rpm (Córdova-Bautista *et al.*, 2009). Posteriormente, diluciones seriadas en base diez hasta  $10^{-4}$ , fueron llevadas a cabo, 0.1 mL de la dilución  $10^{-4}$  fue inoculado en cajas de Petri conteniendo como medio de cultivo agar nutritivo adicionado con 80 ppm de terbinafina y agar papa dextrosa adicionado con 80 ppm de ácido nalidíxico. Las cajas de Petri inoculadas fueron incubadas durante 2 días a 28° C y se realizó conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) totales para cuantificar la población microbiana para cada sitio de estudio, así como de forma individual para cada cepa con características macroscópicas distintas para conocer la abundancia relativa de las mismas.

Los aislados con características macroscópicas diferentes fueron preservados a -20 °C en 70% de glicerol (Rives *et al.*, 2009) y resguardados en COLMENA (Colección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos) del Laboratorio de Biotecnología del Recurso Microbiano, con sede en el Instituto Tecnológico de Sonora.

### **Producción de compuestos indólicos totales en los microorganismos aislados**

La producción de compuestos indólicos se cuantificó mediante el ensayo colorimétrico descrito por de los Santos-Villalobos *et al.* (2013) con modificaciones, utilizando como medios de cultivo caldo nutritivo y caldo papa dextrosa suplementado con 100 ppm de triptófano (precursor del AIA). Posteriormente, una asada simple de cada uno de los microorganismos obtenidos fueron inoculados en los medios de cultivo antes mencionadas, e incubados a 28°C durante 5 días a 150 rpm. Una vez transcurrido el periodo de incubación, 1 mL del cultivo microbiano fue centrifugado a 8000 rpm durante 10 minutos, y el sobrenadante se utilizó en la reacción 1:2 con el reactivo Salkowky, incubándose 30 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. La cuantificación del contenido de índoles totales en las muestras fue analizado a 540 nm en un espectrofotómetro (iMark™ microplate absorbance reader) y utilizando una curva estándar con un gradiente de AIA (2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 y 25 ppm) reaccionado bajo las mismas condiciones que las muestras.

### **Análisis estadísticos**

Todos los experimentos fueron replicados independientemente tres veces. Los datos obtenidos fueron analizados por la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía y el método de Tukey–Kramer (P = 0.05), utilizando el software Statgraphics Plus 5.1.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

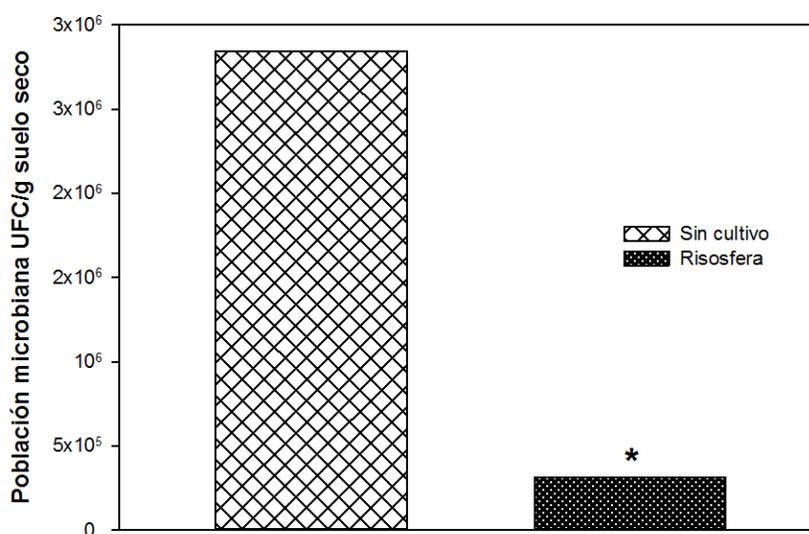
### **Aislamiento de comunidades microbianas en los sitios de estudio**

El suelo es una matriz dinámica que alberga un gran número de microorganismos, donde la diversidad y abundancia de éstos se ve influenciada por cambios edafo-climáticos y biológicos, *i.e.* disponibilidad de nutrientes, de temperatura y modificaciones en sus propiedades fisicoquímicas y bióticas (Garbeva *et al.*, 2004; Rousk *et al.*, 2009). Así, las comunidades microbianas edáficas en el Valle del Yaqui son constantemente sometidas a diversos tipos de estrés (térmico, hídrico, salino y nutrimental) ocasionando potenciales variaciones en sus comunidades microbianas.

En el presente estudio, un total de 130 cepas microbianas fueron obtenidas del suelo sin cultivo y 50 del suelo rizosférico asociadas a parcelas agrícolas destinadas a la producción de trigo en esta región, éstas fueron identificadas y seleccionadas en base a sus características macroscópicas (forma, elevación, borde y color). La población microbiana en el suelo sin cultivo fue significativamente mayor comparada con aquella observado en el suelo rizosférico,  $2.8 \times 10^6$  UFC/g suelo seco vs.  $2.4 \times 10^5$  UFC/g de suelo seco, respectivamente (figura 2). En el suelo sin cultivo se observó una mayor diversidad y población microbiana en comparación con el suelo rizosférico, no obstante las condiciones de estrés hídrico, térmico y nutrimental existentes debido a la ausencia de la aplicación de fertilizantes, riego y altas temperaturas, lo que sugiere que los microorganismos presentes en los sitios de estudio bajo

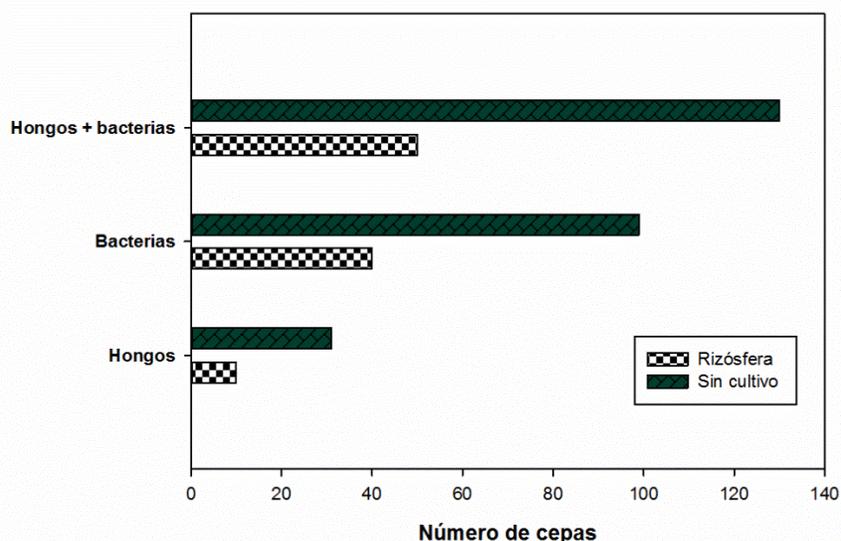
estas condiciones edafo-climáticas cuentan con mecanismos para tolerar el estrés oxidativo que estas condiciones desencadenan.

Por otro lado, se ha identificado que algunos cultivos (*Arabidopsis*, arroz, avena, papa, tabaco, soya, entre otros) tienen la capacidad de realizar una selección de cepas microbianas en su rizósfera (Mendes *et al.*, 2014). Los exudados de estas plantas (aminoácidos, flavonoides, compuestos fenólicos, proteínas, ácidos grasos, ácidos orgánicos, etc) sirven como sustrato y/o señales para atraer o repeler grupos específicos de microorganismos (Bakker *et al.*, 2012). De esta manera, la baja diversidad y población de los microorganismos cultivables en la rizósfera del cultivo de trigo en comparación con aquellos obtenidos del suelo sin cultivo en el presente trabajo se ve reducida probablemente a la acidificación del suelo mediante la exudación de ácidos orgánicos generados por el trigo (Camelo *et al.*, 2011).



**Figura 2. Población microbiana (UFC/g suelo seco) para el suelo sin cultivo y suelo rizosférico. \***  
Existe diferencia significativa con 95% de confianza.

También se ha reportado que factores como el pH, la salinidad y el contenido de materia orgánica alteran la diversidad microbiana del suelo (Gaur y Mukherjee, 1980; Hartmann *et al.*, 2015). Así, la baja población de hongos observada en el presente estudio (figura 3), posiblemente es el resultado del bajo contenido de materia orgánica presentes en los suelos del Valle del Yaqui (<1%) (Matson y Jewett, 2012), ya que éstos son organismos principalmente saprófitos, es decir, degradan la materia orgánica para utilizarla como fuente de carbono y energía. Además otro factor determinante para el desarrollo de los hongos es el pH, ya que estos microorganismos crecen principalmente a pH ácido, sin embargo, los suelos del Valle del Yaqui se caracterizan por ser ligeramente alcalino, pH 8.5 (Rousk *et al.*, 2009), lo cual limita el establecimiento de las poblaciones fúngicas en este agro-sistema.



**Figura 3. Número de cepas microbianas aisladas de la rizósfera y suelo sin cultivo destinado a la producción agrícola de trigo en el Valle del Yaqui.**

Por otro lado se obtuvo que en el suelo rizosférico como suelo sin cultivo la abundancia de bacterias fue mayor, observando una proporción del 80% y 76% respectivamente (figura 3). Esto podría estar fuertemente relacionado con la gran cantidad de fertilizantes aplicados en suelos agrícolas del Valle del Yaqui (figura 4). Por ejemplo, la aplicación promedio de fertilizantes nitrogenados en el cultivo de trigo es de 263 kg ha<sup>-1</sup> (Cortés *et al.*, 2011) sin embargo el 60 % queda como remanente en el suelo unido a partículas de arcilla (Uvalle y Cortés, 1999). Este exceso de fertilización genera sustrato disponible para su aprovechamiento por microorganismos que presentan un metabolismo quimiolitótrofo, tal es el caso de bacterias *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* involucradas en los procesos de nitrificación (NH<sub>4</sub>-N convertido a NO<sub>3</sub>-N) y desnitrificación (óxidos de nitrógeno reducidos a óxidos gaseosos) respectivamente (Verhulst *et al.*, 2015).

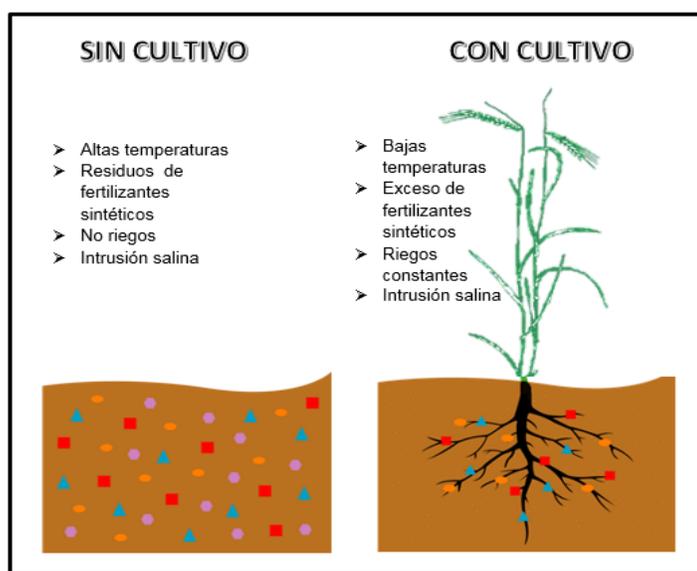


Figura 4. Esquema de las características edafoclimáticas y microbianas de los sitios de estudio (microorganismos edáficos en suelo sin cultivo y microorganismos rizosféricos).

#### Cuantificación de índoles totales en las cepas microbianas obtenidas

En este estudio, el método de Salkowski fue utilizado como método colorimétrico para cuantificar la producción de ácido indol acético –dependiente de triptófano– por las cepas obtenidas.

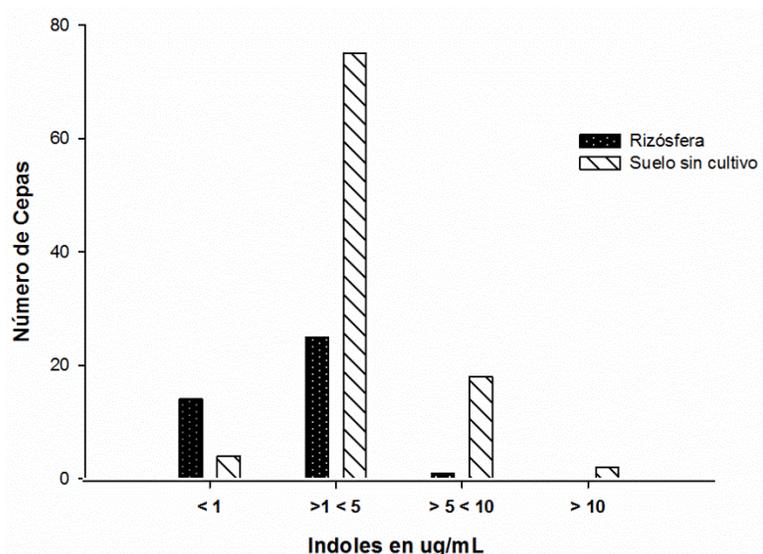


Figura 5. Producción de índoles en cepas bacterianas rizosféricas y del suelo sin cultivo.

En la tabla 1 se observa que la mayor producción de compuestos indólicos fue de 31.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para las bacterias del suelo sin cultivo. Mientras que en la tabla 2 se muestran las bacterias aisladas de la rizósfera del cultivo de trigo, observándose que la mayor producción de compuestos indólicos fue de

5.3 µg/mL. En ambos casos la mayor cantidad de cepas se encontraron en un rango de producción de 1 a 5 µg/mL, como se puede observar en la figura 5. Por otro lado se obtuvo que el 100 % de los hongos aislados tanto de la rizósfera como del suelo sin cultivo se produjeron cantidades menores a 1.5 µg/mL.

Los resultados obtenidos en la producción de compuestos indólicos por cepas microbianas se encuentran en el rango reportado para géneros como: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Azotobacter* y *Azospirillum* (Lara *et al.*, 2011; de los Santos Villalobos *et al.*, 2013; Luna *et al.*, 2013) las cuales promueven el crecimiento vegetal, sugiriendo el potencial de las cepas obtenidas del Valle del Yaqui como promotoras del crecimiento vegetal.

**Tabla 1. Cepas aisladas de suelo sin cultivo con alta producción de índoles.**

Cepas	Población total (UFC/g suelo seco)	Abundancia relativa (%)	Producción de índoles (µg/mL).
TSQ30	2.8x10 <sup>6</sup>	15.0	8.8
TSQ31		20	9.4
TSM29		0.6	9.7
TSM30		5.6	13.0
TSM31		2.0	31.5

**Tabla 2. Cepas aisladas de suelo rizosférico con alta producción de índoles.**

Cepas	Población total (UFC/g de suelo seco)	Abundancia relativa (%)	Producción de índoles (µg/mL).
TRO1	2.4x10 <sup>5</sup>	0.2	2.5
TRQ1		0.9	2.8
TRM89		0.6	3.6
TRM94		0.6	4.1
TRO5		4.3	5.3

Se ha reportado que factores como estrés abiótico, tales como: nutrimental (ya sea exceso o ausencia de nutrientes), térmico, salino, hídrico, así como respuesta a especies reactivas de oxígeno (ROS) (Wang *et al.*, 2001; Bianco *et al.*, 2006) incrementan la producción de índoles, esto a través de la expresión de enzimas involucradas en el catabolismo de aminoácidos, expresión de genes presentes en la síntesis de moléculas para el fortalecimiento de la pared celular y enzimas con capacidad antioxidante (Bianco *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2001). Así, los bajos niveles de nutrientes en el Valle del Yaqui, la alta salinidad en sus suelos por uso excesivo de fertilizantes, las altas temperaturas y la escasez de agua presente en el suelo sin cultivo explican el aislamiento de cepas bacterianas con la mayor capacidad de producción de ácido indol acético vs. bacterias aisladas de la rizósfera, las cuales probablemente no producen estos compuestos indólicos para promover el crecimiento vegetal del trigo, sino como un mecanismo antioxidativo para minimizar los efectos negativos oxidantes de las condiciones adversas encontradas en el Valle del Yaqui en los suelos sin cultivo. Además, por otro lado la alta cantidad de fertilizantes aplicados durante el desarrollo del cultivo de trigo afecta negativamente los mecanismos de secreción de índoles por las comunidades microbianas presentes en la rizósfera (Camelo *et al.*, 2011).

## CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación contribuyen a la caracterización microbiana de los suelos del Valle del Yaqui, Sonora, utilizados para la producción de trigo, mediante la caracterización de dichas cepas en relación a su producción de índoles, evidenciando sus potenciales mecanismos antioxidantes para contrarrestar el estrés ocasionado por las condiciones edafo-climáticas adversas durante la ausencia de cultivo, ya que las cepas aisladas del suelo sin cultivo presentaron mayor producción de compuestos indólicos, como posible respuesta a las condiciones de estrés abiótico presentes en la región. Además se sugieren como cepas autóctonas con potencial de promoción del crecimiento vegetal en el Valle del Yaqui.

## REFERENCIAS

- Aguilar, J., Xiqui, M., García, S. y Baca, B. (2008). Producción del ácido indol-3- acético en *Azospirillum Latinoamericana de Microbiología*, 50(1 y 2), 29-37.
- Ahemad, M. & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26: 1-20.
- Bakker, M., Manter, D., Sheflin, A., Weir, T. & Vivanco, J. (2012). Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management, *Plant and Soil* 360:1–13.
- Bianco, C., Imperlini, E., Calogero, R., Senatore, B., Pucci, P. & Defez, R.(2006). Indole-3- acetic acid regulates the central metabolic pathways in *Escherichia coli*, *Microbiology*, 152, 2421-2431.
- Camelo, M., Vera, S. y Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y tecnología agropecuaria*, 12(2), 159-166.

- Cortés, J., Fuentes, D., Ortiz, E., Tamayo, E., Cortez, M., Ortiz, A., Félix, V. y Armenta, C. (2011). Agronomía del trigo en el Sur de Sonora, INIFAP Libro Técnico No. 6, 1-20.
- Córdova Bautista, Y., Rivera Cruz, M.C., Ferrera-Cerrato, R. Obrador-Olán, J.J. y Córdova-Ávalos, V. (2009). Detección de bacterias benéficas en suelo con banano (*Musa AAA Simmonds*) cultivar 'Gran enano' y su potencial para integrar un biofertilizante. *Universidad y ciencia*, 25(3), 253-265.
- Castellanos, J., Cueto, J., Macías, J., Salinas, J., Tapia, L., Cortés, J., González, I., Mata, H., Mora, M., Vázquez, A., Valenzuela, C. y Enríquez, S.(2005).La fertilización en los cultivos de maíz, sorgo y trigo en México. INIFAP-SAGARPA. Folleto técnico núm 1.
- de los Santos, S., Barrera, G., Miranda, M. & Peña, J.(2013).*Burkholderia cepacia* XXVI siderophore with biocontrol capacity against *Colletotrichum gloeosporioides*. *World J microbial biotechnol*, 28, 2615-2623.
- do Vale Barreto, M., Seldin, L., De Araujo, F.F.& Ramos, R.L. (2010). Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications, Springer Berlin Heidelberg, 21-43.
- Financiera rural. (2009). Breve monografía del trigo grano. Recuperado el día 4 de diciembre 2012 de: [http://www.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monograf%C3%ADa\\_Trigo-Junio-2009.pdf](http://www.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monograf%C3%ADa_Trigo-Junio-2009.pdf)
- Gaur, C. & Mukherjee, D. (1980). Recycling of organic matter through mulch in relation to chemical and microbiological properties of soil and crop yields. *Plant and soil*, 56, 273-281.
- Garbeva, P. & Veen, V., Van, E. (2004). MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–70.
- Glick, B. (2012). Review Article Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*. Hindawi publishing corporation scientifica, 2012, 1-16.
- Hartmann, M., Frey, B., Maye, J., Mäder, P. & Widmer, P. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME Journal* 9, 1177–1194.
- Lara, C., Oviedo, L. y Alemán, A.(2011). Aislados nativos con potencial en la producción de ácido indol acético para mejorar la agricultura. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 9 (1), 17-kua23.
- Luna, L., Martínez, R., Hernández, M., Arvizu, S. y Pacheco, J.(2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Fitotec*, 36(1), 63-59.
- Matson, P. & Jewett, P. (2012). Ecosystems and land-use change in the Yaqui Valley: does agricultural intensification "spare land for nature". In P.A. Matson (Ed.). *Seeds of sustainability*. Island Press, Washington.

- Mendes, L., Kuramae, E., Navarrete, A., & Van, J. (2014). Taxonomic and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *The ISME*, 1577-1587.
- Mohammadi, K., (2011). Soil microbial activity and biomass as influenced by tillage and fertilization in wheat production. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 10 (3), 330-337.
- Rives, N., Acebo, Y., Almaguer, M., García, J. y Hernández. (2009). Actividad antagónica frente a *Pyricularia grisea* (SACC.) y fitoestimulación en el cultivo del arroz de cepas autóctonas de *Pseudomonas putida* (TREV). *Rev protección veg.* 24(2), 106-116. SAGARPA. 2014. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Recuperado el 05 de 01 de 2014, de <http://www.siap.gob.mx/>.
- Rojas, D., Contreras, M. y Santoyo, G. (2013). Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. *Biológicas*, 15(2), 36-41.
- Rousk, J., Brookes, P. & Bååth, E. (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Appl Environ Microbiol.* 75(6), 1589–1596.
- SAGARPA. (2014). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Recuperado el 05 de enero de 2014 de: <http://www.siap.gob.mx/>
- SAGARPA & Servicio Nacional de Sanidad (2015). Manual técnico de muestreo de productos agrícolas y fuentes de agua para la determinación de contaminantes microbiológicos. Recuperado el día 4 de noviembre 2015 de: [http://www.cesavejal.org.mx/divulgacion/Manual%20Digital%202014/17.1%20manual\\_MUESTREO\\_MICROBIOLOGICO\\_CORREGIDO1%20\(3\)\(1\)%20\(2\).pdf](http://www.cesavejal.org.mx/divulgacion/Manual%20Digital%202014/17.1%20manual_MUESTREO_MICROBIOLOGICO_CORREGIDO1%20(3)(1)%20(2).pdf)
- Saharan, B. y Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011, 1-30.
- Shewry, P.R. (1999). The synthesis, processing, and deposition of gluten proteins in the developing wheat grain. *Cereal Foods World* 44: 587–589.
- Uvalle, B. y Cortés, J. (1999). Validación experimental del monitoreo de los requerimientos nutricionales y uso eficiente del nitrógeno del cultivo de trigo. En: Día del agricultor 1999. Publicación especial Núm. 6. CEVY-CIRNO-INIFAP. Cd. Obregón, Sonora, México.
- Verhulst, N., François, I., Grahmann, K., Cox, R. y Govaerts, B., (2015). Eficiencia del uso de nitrógeno y optimización de la fertilización nitrogenada en la agricultura de conservación. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) edición 2015. México.
- Wang, D., Ding, X. & Rather, P. (2001). Indole can act as an extracellular signal in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 183, 4210–4216.

## CAPÍTULO VII

### AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA PROTEÍNA AZUL DE MEDUSA BALA DE CAÑÓN *Stomolophus meleagris*

**Tirado López, J.E., Díaz Tenorio, L.M.\*, Hernández Corral, E.A., Gassós Ortega, L.E. y Leyva Soto, L.E.**

Instituto Tecnológico de Sonora. Dirección de Recursos Naturales. 5 de Febrero 818 Sur, Col. Centro.  
C.P. 85000. Cd. Obregón, Sonora [\\*lourdes.diaz@itson.edu.mx](mailto:lourdes.diaz@itson.edu.mx)

**Palabras clave:** medusa, pigmento, proteína

#### INTRODUCCIÓN

La pesca y comercio de la medusa bala de cañón es muy común en la región noroeste del país, pero ésta no siempre es compensada adecuadamente por los compradores asiáticos. La pregunta es ¿qué se puede hacer al respecto? El consumo de la medusa bala de cañón no es común ante la cultura mexicana. No obstante, hay otras culturas, en especial la asiática, donde es regular su consumo, para ellos este alimento es todo un manjar. Dada a la gran diferencia del punto de vista de la comunidad mexicana, es necesario buscar un posible uso nuevo para la medusa. Una de las propiedades características de esta medusa es el intenso color azul que pueden tomar. Por esta razón, se optó por realizar una investigación sobre la extracción del pigmento, o proteína azul de *Stomolophus meleagris* y darle un nuevo uso biotecnológico o un valor agregado.

El presente estudio proporciona una opción para el aprovechamiento de la medusa bala de cañón, continuando su pesca en la región y a su vez mejorando los rendimientos de las empresas pesqueras y camaroneras del Pacífico. De esta manera, también se podrán obtener productos de valor agregado a partir de esta medusa e implementarlo en las áreas donde convenga más su uso. Una vez que esto se lleva a cabo, debido a las cadenas comerciales y sociales, se logra una mayor cantidad de productos para los consumidores, bajando su precio e incluso mejorando su calidad. Cabe mencionar que, ya que se aprovechen las medusas, se logrará eliminar una gran cantidad de contaminantes que se producen al desechar estos especímenes en su totalidad como se hace hoy en día. En total, la realización de este proyecto lleva a una mejora económica para sectores privados y públicos, eliminando también una gran cantidad de contaminantes en su paso.

Tomando en consideración el pigmento azul para otorgar un valor agregado a la medusa bala de cañón *S. meleagris*, es de alta relevancia la composición proximal de este espécimen. El tejido de la medusa tiene la capacidad de retener altos niveles de humedad, puesto que la cantidad de agua de estas muestras se encuentra entre el 94.1 y 95.6%; no obstante, el tejido mantiene una textura turgente y crujiente (Hsieh *et al.*, 2001). El análisis de medusa procesada (salada) indica que un producto comercial malasio y un producto chino contienen un promedio de 5.5 y 6.8 g de proteína por cada 100 g de producto salado, respectivamente (Huang, 1988). También se han realizado análisis de aminoácidos, mismos que han revelado que el contenido de glicina corresponde a la tercera parte del total de residuos de aminoácidos, con una proporción alta de hidroxiprolina e hidroxilisina,

indicando así que la proteína de la medusa es principalmente colágeno (Barzansky *et al.*, 1975). No obstante, hay otras proteínas presentes, entre ellas la “proteína azul”, siendo ésta una cromoproteína con funcionalidades de posible interés biotecnológico. Se denomina como cromoproteína a aquellas heteroproteínas con sugerencia cromática, debida a la presencia de elementos metálicos en su grupo prostético (Sanz y Gallego, 2001).

Debido a sus propiedades de coagulación se puede utilizar en la industria alimentaria en la elaboración de gelatinas y otros alimentos que se encuentren en un estado de gel. Se está evaluando la posibilidad de extraer el colágeno de esta especie, sin embargo se presentan problemas con los costos de producción. Por otro lado, la proteína azul, al ser completamente hidrosoluble, sigue un proceso mucho más sencillo y por consecuencia menos costoso. Es por esta razón se propone que la proteína de pigmento de medusa bala de cañón puede ser utilizada en la industria alimentaria con un parecido al uso de los hidrocoloides.

Los hidrocoloides son polisacáridos de origen natural o modificado que ejercen propiedades funcionales en sistemas alimenticios bajo condiciones especiales. Algunas de sus funciones son espesar, suspender, combinar, estabilizar y gelificar. Son un grupo de aditivos multifuncionales que fundamentalmente sirven para regular el agua presente en los alimentos, ya que son polímeros cuya capacidad es la de absorber grandes cantidades de agua. Ésta es una de las dos propiedades que le dan su prioridad de uso dentro de la industria alimentaria, la otra es la capacidad de formar geles. La modificación de textura y viscosidad de sistemas alimenticios ayuda a mejorar sus propiedades sensoriales, por lo cual los hidrocoloides son utilizados como aditivos alimentarios significativos para llevar a cabo propósitos específicos (Cubero, 2002).

El objetivo de la presente investigación fue establecer un protocolo de aislamiento de la proteína azul de la medusa bala de cañón (*Stomolophus meleagris*), así como evaluar la estabilidad a diferentes combinaciones de temperatura-tiempo y pH-tiempo. Lo anterior con la finalidad de proponer condiciones de purificación, almacenamiento y conservación de su cualidad colorida, esto para futuros procesos de investigación y evaluación de su potencial biotecnológico.

## **METODOLOGÍA**

Las muestras fueron obtenidas en la primavera del 2014, en Bahía de Kino, Sonora. Se capturaron organismos de *S. meleagris* empleando redes de cuchara con ayuda de pescadores comerciales. Los ejemplares fueron almacenados en hielo inmediato a su captura para mantener la cantidad de proteína lo más íntegra posible, y una vez en el laboratorio se les almacenó en congelación hasta su uso. A partir de estos ejemplares se realizó un homogeneizado de cinco medusas, para lo cual se empleó un cuchillo de cocina y un procesador de alimentos. Una vez realizado el homogeneizado, se almacenaron en alícuotas de aproximadamente 30 g de masa, las cuales se congelaron a -20°C hasta su uso.

Se evaluaron tres solventes para el aislamiento de la proteína azul: agua destilada, una solución salina de cloruro de sodio (NaCl) al 3.5% en agua destilada y ácido acético 0.5 N. La muestra fue homogeneizada en una placa con agitación con cada solvente en relación 1:3 (p/v) a 4°C, comparando tiempos de agitación de 20 y 40 min. La mezcla resultante fue centrifugada (10,000 g; 45 min; 4°C), se descartó la fase sólida y se conservó el sobrenadante de coloración azul. Se cuantificó proteína

soluble por el método de Bradford (Bradford, 1976), usando como proteína estándar albúmina sérica bovina (BSA). Debido a que se utilizaron tres solventes diferentes, se realizó una curva estándar para cada uno con el fin de eliminar las variaciones espectrofotométricas y posibles errores de cálculo. Se calculó el rendimiento de extracción utilizando valores conocidos como el volumen final de extracción y la masa de medusa utilizada.

La estabilidad de una proteína puede verse afectada por diferentes variables operacionales, entre estos se encuentran unos de los más importantes que son la temperatura y el pH. Al cambiar estas condiciones, las proteínas cambian de estructura, de tal manera que pueden desnaturalizarse y perder la funcionalidad. En el presente trabajo se evaluaron diferentes combinaciones de tiempo-pH y tiempo-temperatura (tablas 1 y 2), una vez concluido el tiempo de incubación a las condiciones establecidas se regresaron a las condiciones iniciales (0 °C y pH 7) y se cuantificó proteína.

**Tabla 1. Condiciones de tiempo y temperatura para el ensayo de termoestabilidad.**

Temperatura °C	Tiempo
5	
10	0, 12, 24, 48, 72 y 96 h
25	
35	
45	0, 5, 10, 20, 40 y 60 min
55	

**Tabla 2. Condiciones de tiempo y pH para el ensayo de pH-estabilidad.**

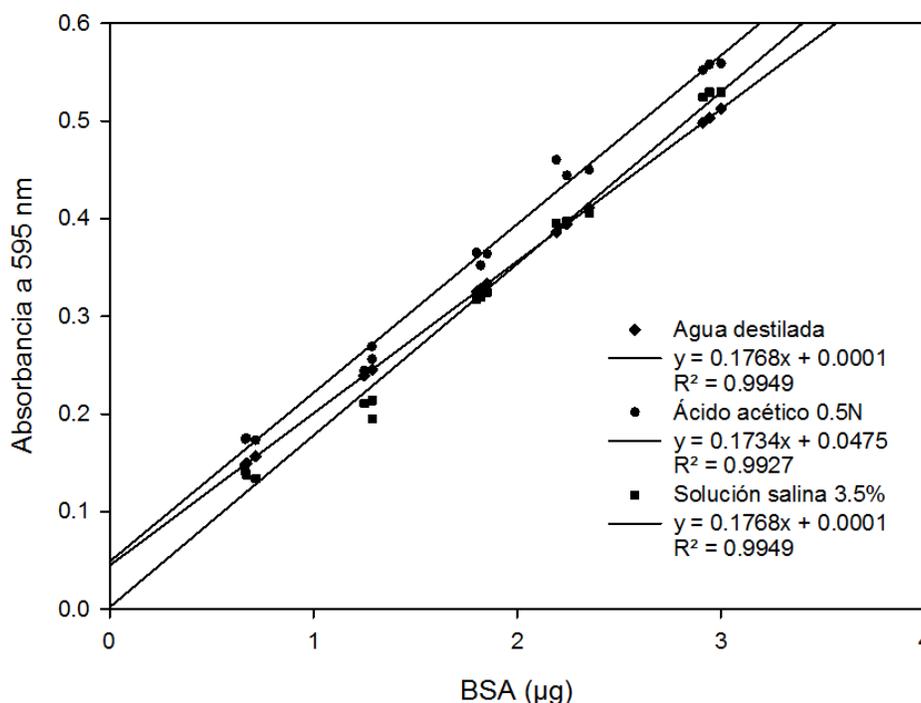
pH	Tiempo
5	
7	0, 12, 24, 48, 72 y 96 h
9	
3	
11	0, 5, 10, 20, 40 y 60 min

Con el fin de verificar la estabilidad del color se realizaron barridos espectrofotométricos de 380 a 720 nm para evaluar el cambio de los espectros de máxima absorción de la proteína azul para cada solvente utilizado y cada ensayo de termo y pH-estabilidad. Se aplicó también una separación de proteínas mediante una electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones nativas y desnaturantes (SDS-PAGE). Para ello el extracto proteico fue concentrado por centrifugación con filtros de membrana de 10 kDa (3,200 g, 50 min, 4°C). La separación electroforética se realizó en condiciones desnaturantes no reductoras, en geles de poliacrilamida al 10% aplicando una carga de 15 mA por gel. Las muestras se inyectaron al gel en cantidades isoproteicas en relación 1:1 (v/v) con el buffer de carga 2x (0.125 M Tris-Cl, 4% SDS, 20% glicerol). Los geles se tiñeron en un baño en

plataforma oscilante con una solución azul de Coomassie (0.025% Coomassie Brilliant Blue R-250, 40% (v/v) metanol, 7% (v/v) ácido acético) durante una hora. Transcurrido el tiempo, los geles fueron desteñidos en una solución desteñidora (40% (v/v) metanol, 7% (v/v) ácido acético) hasta la remoción del colorante azul y se fotodocumentó.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la cuantificación de proteína se realizaron tres curvas estándar empleando BSA y cada solvente: agua destilada, solución salina 3.5% y solución de ácido acético 0.5 N. Los datos de cada solvente fueron ajustados a un modelo de regresión lineal y se generó la ecuación de la recta de cada serie, todas con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) mayor a 0.99 (Figura 1). El ajuste lineal de cada solvente, aunque presenta tendencias similares (pendiente positiva), varía en el valor de la pendiente, por lo que se decidió utilizar la ecuación de la recta generada para cada solución en las cuantificaciones de proteína, evidenciando así, la importancia de ajustar las condiciones de análisis con las características de las muestras y así evitar errores de cuantificación.



**Figura 5. Curva estándar de Bradford de cada solvente**

El tiempo de extracción varió con la finalidad de establecer un método óptimo de extracción. El rendimiento de cada solvente fue calculado, siendo 20 y 40 min los lapsos de tiempo utilizados (tabla 3). Los resultados fueron analizados estadísticamente por comparación de medias al 95% de confianza. Todos los resultados de rendimiento se encontraron en un rango entre 0.57 y 0.69 mg de proteína/ g de tejido de medusa. Aunque no hubo diferencia significativa en el rendimiento de los tres solventes al agitar durante 40 minutos, en la agitación de sólo 20 min la solución salina al 3.5%

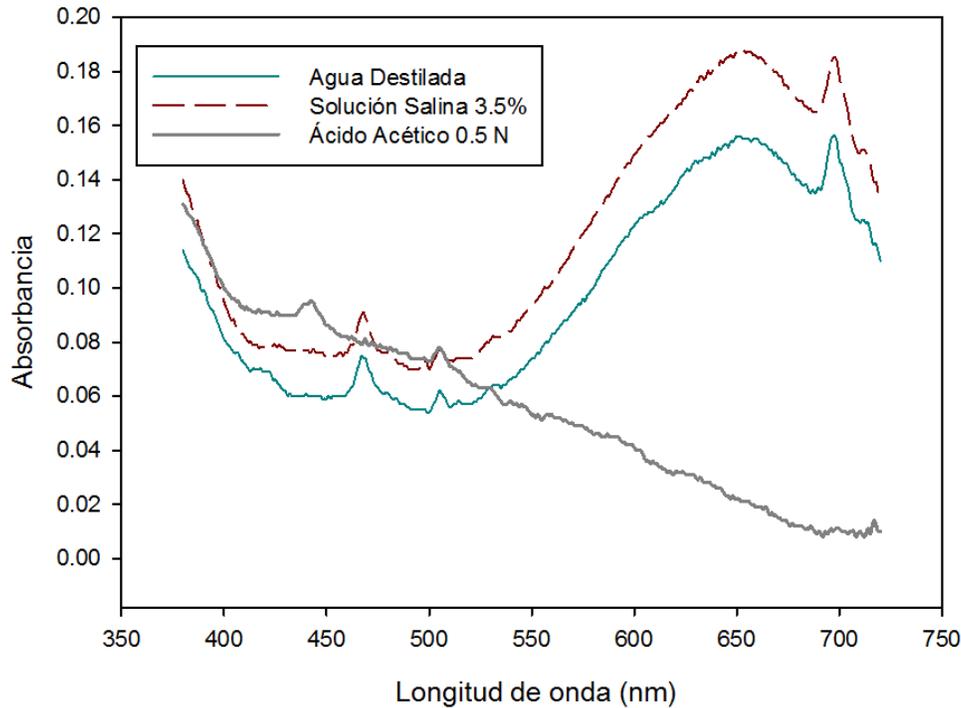
resultó ser mejor opción, con un rendimiento promedio de 0.69 mg de proteína/g de tejido de medusa, diferenciándose significativamente de los otros solventes empleados. Estos resultados demuestran que tiempos de agitación mayores a 20 minutos no aumentan el rendimiento de extracción de proteína soluble si no que se mantiene.

**Tabla 3. Rendimiento promedio de extracciones con tres solventes**

Solvente	Rendimiento (mg de proteína/ g de tejido de medusa)	
	20 min	40 min
Agua destilada	0.61 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.03 <sup>a</sup>
Solución salina 3.5%	0.69 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.10 <sup>a</sup>
Ácido acético 0.5 N	0.61 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.05 <sup>a</sup>

Aunque la cantidad de proteína extraída en cada tratamiento es similar, se realizaron barridos espectrofotométricos de cada aislado para verificar la presencia e integridad de la proteína de interés mediante su espectro de absorción (figura 2). A simple vista la coloración de la muestra del tratamiento con ácido acético tornó a una tonalidad morada durante la agitación y viró a una coloración café durante su almacenamiento en congelación, mientras que el aislado de los tratamientos restantes se apreciaba de coloración azul intensa. El comportamiento del espectro al emplear agua destilada y solución salina como solvente muestra un patrón idéntico, que difiere únicamente en la altura, atribuido a la diferencia en la concentración resultante de cada tratamiento. Estos aislados presentaron una longitud de onda máxima cercana a los 650 nm, cercano a la longitud de onda del pigmento azul de las medusas *Rhizostoma pulmo* (Bulina *et al.*, 2004) y *Cassiopea xamachana* (Blanquet y Phelan, 1987).

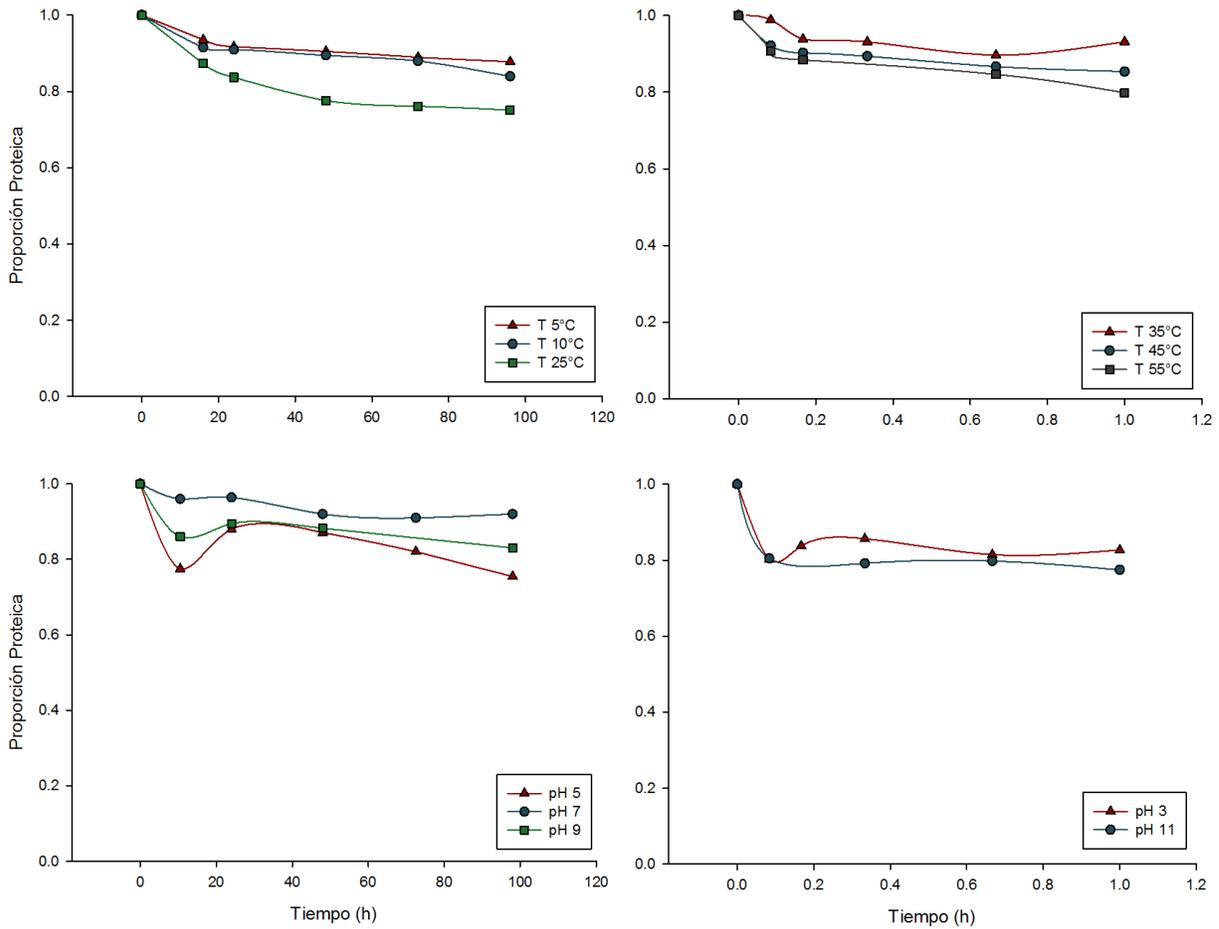
Por otro lado, el espectro de absorción de la extracción con ácido acético (de coloración café) muestra, como se esperaba, un comportamiento completamente diferente, disminuyendo los valores de absorbancia al aumentar la longitud de onda. La aplicación de tratamientos ácidos sobre pigmentos hace que por lo menos el 50% de él pierda su color, y al estar perdiendo su color un pigmento, tiende a tornarse a un color café la mayor parte del tiempo (Badui, 2006). El espectro de absorción demuestra una pérdida de color y visualmente captó una coloración café, indicando así una oxidación del pigmento, por lo cual no es factible utilizar el ácido acético como solvente de extracción. Tomando esto en cuenta, para estandarizar el método sólo se tomó en cuenta como solventes agua destilada y solución salina.



**Figura 2. Espectro de absorción de las extracciones con cada solvente.**

A pesar de que los mejores rendimientos se obtienen con solución salina como solvente, se considera que el costo de utilizar solución salina 3.5% es mayor al de agua destilada, por lo cual se considera más recomendable utilizar el agua destilada como solvente de extracción, esto a menos que se tenga agua marina disponible, misma que podría emplearse previo tratamiento de filtración. Éste método fue el que se implementó para realizar las extracciones para la estabilidad proteica termal y de pH para determinar cómo esta proteína puede ser manejada y almacenada sin perder su funcionalidad.

Un tratamiento térmico puede desnaturalizar por completo una proteína (Sikorski, 2001) por lo que éste se llevó a cabo bajo condiciones de temperatura desde 5°C hasta 55°C. Una vez realizadas las cuantificaciones de proteína de las muestras por cada tiempo de medición se plasmaron los datos sobre una gráficas de relación tiempo-proporción proteica (figura 3), donde éste término hace referencia a la proporción de proteína de cada una de las mediciones con respecto a la cantidad de proteína inicial del tratamiento (0 h).

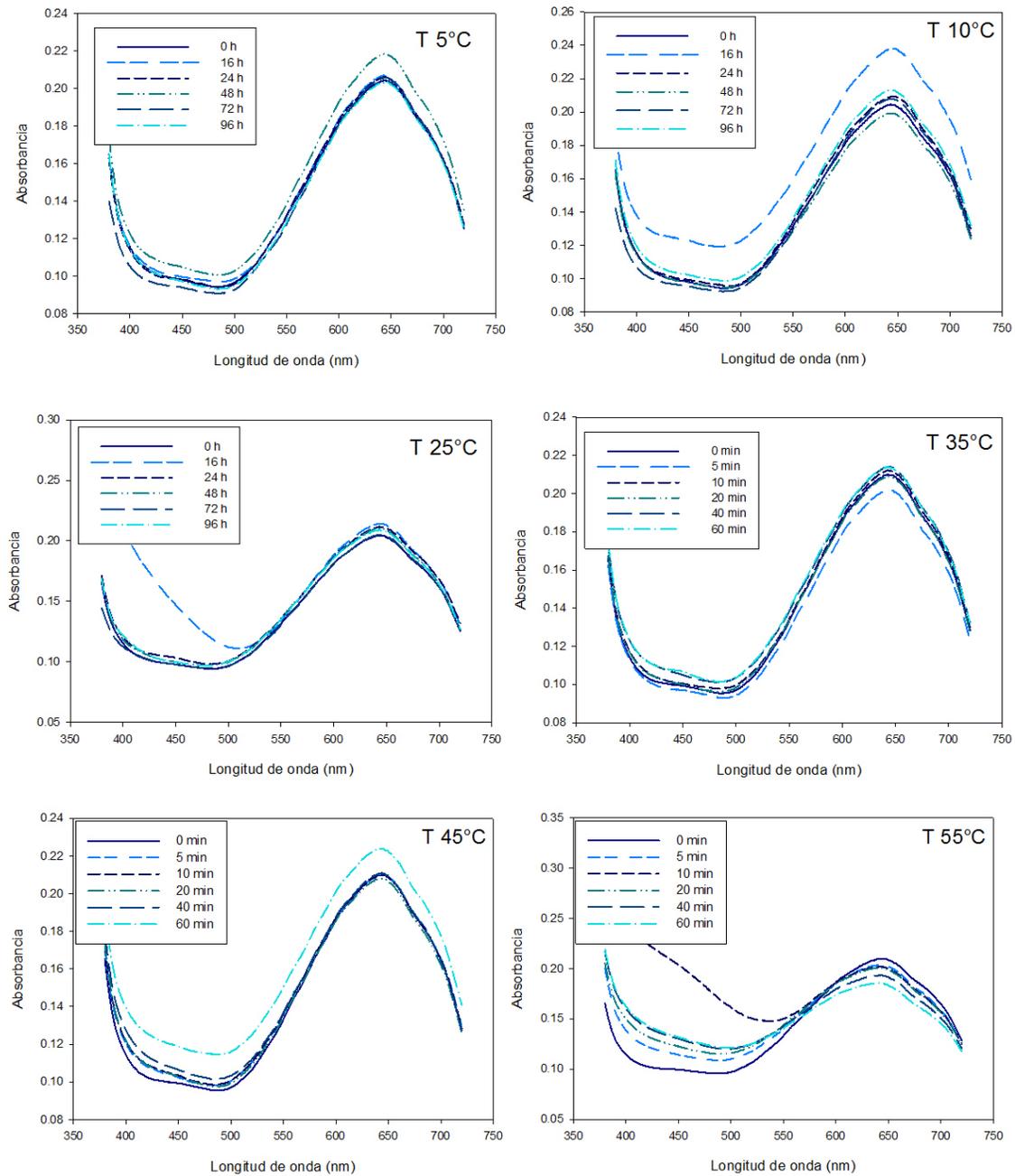


**Figura 3. Proporción proteica de A: termoestabilidad 5°C y 55°C y B: pH-estabilidad entre pH 3 y 11 del aislado proteico**

Los patrones de comportamiento plasmados en la gráfica de la estabilidad proteica termal demuestran una disminución gradual de la proteína dentro de la muestra. Se logró apreciar que a temperaturas entre 5 y 10°C (izquierda) la proteína puede permanecer hasta 96 h (4 d) con una pérdida mínima de tan solo el 10-15% de la proteína inicial. A temperatura ambiente (25°C) logra soportar este mismo período con una pérdida de aproximadamente 25% de la proteína inicial. Por otra parte, a temperaturas más elevadas de 35-45°C (derecha) se pierde aproximadamente el 10-15% en tan solo una hora y en el tratamiento de 55°C hasta el 20%. Visualmente, las muestras tratadas a mayores temperaturas demostraron una pérdida de tonalidad azul en los plazos más largos de tiempo.

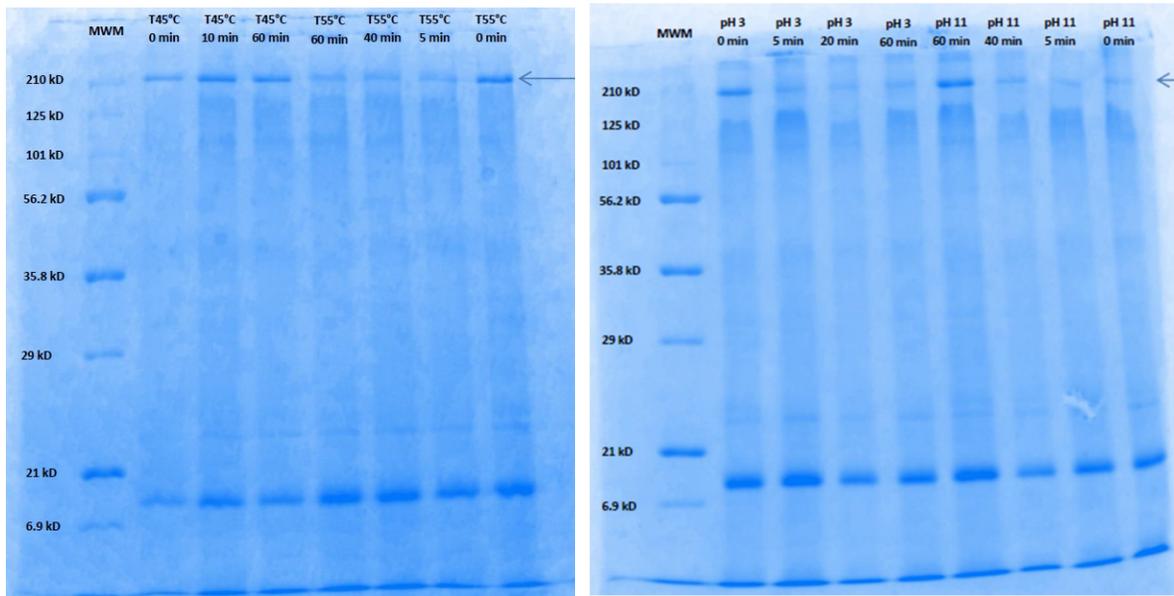
Además de la observación de la tonalidad del aislado para la identificación del pigmento azul, se realizaron barridos para obtener el espectro de absorción de cada una de las temperaturas y pH evaluados (figura 4). En los tratamientos de termoestabilidad los picos de máxima absorción se mantienen en la misma longitud de onda que en las condiciones iniciales, disminuyendo su valor de absorbancia debido a diferencias de concentración con el paso del tiempo. Sin embargo, los tratamientos de 25 y 55°C muestran algunas ligeras diferencias en su comportamiento. Esto muestra alteraciones en la muestra, pero el pico máximo de absorción se encuentra en donde mismo, lo cual nos indica a su vez que la proteína se encuentra presente aún. No obstante, el valor óptimo de temperatura para la estabilidad de la proteína de interés se considera ser de 5-10%

El patrón que siguen los resultados de pH-estabilidad es similar al del tratamiento térmico. A condiciones de pH menores a 7, la proporción de proteína disminuye inicialmente y es seguido por un incremento en la concentración, para posteriormente seguir disminuyendo gradualmente. Este comportamiento indica que hubo una desnaturalización seguida de una renaturalización debido a que las muestras fueron sometidas a condiciones extremas durante tiempos relativamente cortos. La remoción de este agente desnaturalizante resultó en la reconstrucción de la estructura nativa. Para que fuese posible renaturalizar la proteína es necesario que algunos fragmentos estables de la conformación de la proteína nativa se hubiesen preservado a pesar de la acción de cualquier agente desnaturalizante (Sikorski, 2001).



**Figura 4. Espectros de absorción en muestras de termoestabilidad.**

Al realizar la electroforesis, la muestra fue cargada sin agregar colorantes (comúnmente usado azul de bromofenol) ya que se puede apreciar el avance de la muestra color azul a través del gel de poliacrilamida. Al utilizar las condiciones nativas no se mostró avance de la proteína azul en diferentes concentraciones de poliacrilamida, indicando el alto peso molecular de la misma. Al aplicar la separación en condiciones desnaturalizantes, aún sin indicador de color, se aprecia la migración de las bandas azules mientras migra en el gel.



**Figura 5. Separación proteica de los ensayos de termoestabilidad (izquierda) y pH-estabilidad (derecha).**

Al teñir éste con la solución azul de Coomassie se observó el patrón de bandas de las muestras, en los cuales no se observan cambios significativos en los ensayos de termoestabilidad (figura 5, izquierda), sin embargo si se muestra un incremento en la cantidad de la banda de interés misma que se localiza a la altura de 210 kDa. Esto ocurrió para todas las temperaturas, excepto a 55°C, lo cual coincide con el cambio drástico en el espectro de máxima de absorción en las muestras tratadas a 55°C, confirmando la presencia de la proteína de interés.

En la figura 5 (derecha) se observa la separación de los ensayos de pH estabilidad, en ellos se observa un incremento en intensidad de la banda correspondiente a la proteína azul al aumentar el tiempo de incubación a pH básicos, sin embargo valores ácidos disminuye la intensidad de la banda. Así es como se utiliza principalmente la variación de pH en la extracción y purificación de proteínas en la industria, con tratamiento alcalino para modificar sus estructuras originales para aumentar su potencial tecnológico y mejorar sus propiedades funcionales (Badui, 2006).

## CONCLUSIONES

Se logró estandarizar un método para la extracción apropiada y óptima de la proteína azul de la medusa bala de cañón *Stomolophus meleagris*. El método con mejor rendimiento, considerando la inversión de tiempo-costo de producción, es utilizando agua destillada como solvente con una agitación en frío durante 20 min. Además, las mejores condiciones para mantener la proteína de interés estable son entre 5 y 10°C ya que se puede mantener así hasta 72 h (3 d) con una pérdida mínima de proteína (entre 10 y 15%). Así mismo, el pH adecuado para mantener la proteína es el mismo que se obtiene una vez que se realiza la extracción, entre 7.10 y 7.50 ya que la proteína tiene una concentración estable durante este tiempo de conservación. No obstante, si se desea purificar la

proteína se puede sugerir aplicar un tratamiento alcalino, donde a su vez podrían mejorar sus propiedades funcionales e incluso aumentar su potencial tecnológico.

## REFERENCIAS

- Badui Dergal, S. (2006). Química de los Alimentos. Cuarta Edición. Estado de México, México: Pearson Educación. 164-172 & 401-444.
- Barzansky, B., Lenhoff, H.M. & Bode, H. (1975). Hydra mesoglea: similarity of its amino acid and neutral sugar composition to that of vertebrate basal lamina. *Comp. Biochem. Physiol.*50B: 419– 424.
- Blanquet, R.S. & Phelan, M.A. (1987). An unusual blue mesogleal protein from the mangrove jellyfish (*Cassiopea xamachana*). *Marine Biology* 94, 423–430.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Bulina, M.E., Lukyanov, K.A., Yampolsky, I.V., Chudakov, D.M., Staroverov, D. B., Shcheglov, A. S. & Lukyanov, S., (2004). New class of blue animal pigments based on Frizzled and Kringle protein domains. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(42), 43367- 43370.
- Cubero, Nuria, (2002). Hidrocoloides. Moferrer, Albert & Villalta, Jordi (Eds). Aditivos Alimentarios (pp.116-157). Madrid, España: Mundi-Prensa Editorial.
- Hsieh, Y. H., Fui-Ming, L. & Rudloe, J. (2001). Jellyfish as food. *Hydrobiologia*, 451 (1-3): 11-17.
- Huang, Y. W., (1988). Cannonball jellyfish, *Stomolophus meleagris* as a food resource. *J. Food Sci.*53: 341–343.
- Sanz, J. & Gallego, R., (2001). Diccionario Akal del Color. Ediciones Akal: pp. 297.
- Sikorski, Z.E., (2001). Chemical & functional properties of food proteins. Pennsylvania, USA: Technomic Publishing Company

## **CAPÍTULO VIII**

### **ESTUDIOS DE BIOADSORCIÓN DE COBRE Y ZINC UTILIZANDO BIOMASA SECA DE LEVADURAS**

**Ortega Campa L., Terán Valdez D. P., Certucha Barragán M.T., Almendariz Tapia F. J.,  
Martínez Meza R.G., Monge Amaya O.\*:**

Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, Universidad de Sonora. Rosales y Boulevard Luis Encinas, Colonia centro. Hermosillo, Sonora, México. Tel. (662 2592106) \*onofrem@iq.uson.mx

**Palabras clave:** bioadsorción, biomasa seca, levaduras

#### **INTRODUCCIÓN**

Los agentes contaminantes, son un conjunto de factores o sustancias que están presentes en el medio ambiente y que causan efectos desfavorables para la salud o el medio ambiente, suelen distinguirse por: agentes biológicos, agentes físicos, y agentes químicos. De estos últimos como ejemplo se pueden mencionar, los hidrocarburos, los metales pesados y los plaguicidas; para que exista la contaminación por química se requiere que una sustancia se acumule en un sustrato dado en concentraciones que excedan el nivel basal y genere efectos adversos. En las últimas cinco décadas, los metales pesados se han convertido en contaminantes ambientales de primera importancia, principalmente por el incremento y la diversificación de los procesos industriales (Lucho *et al.*, 2005). En la actualidad la contaminación del medio ambiente con metales tóxicos, surge como resultado de actividades humanas principalmente industriales. Estos contaminantes son descargados en la atmósfera y en los ambientes acuáticos así como terrestres.

En México, como consecuencia del desarrollo industrial, se registra una creciente y preocupante contaminación ambiental, mayormente debido a la poca educación ambiental en la actividad minera y por la explotación petrolera. A su vez, la industria minera es una de las actividades económicas de mayor tradición en México, la cual es mayoritariamente metálica, y se dedica principalmente a la producción de cobre (Cu), zinc (Zn), plata (Ag) y plomo (Pb). Esta actividad tiene un alto impacto ambiental, ya que afecta desde el subsuelo hasta la atmosfera, incluyendo suelos y cuerpos de agua. Debido al procesamiento de los recursos minerales, se han generado grandes cantidades de residuos sólidos, líquidos y gaseosos que han ocasionado una gran cantidad de sitios contaminados a lo largo de todo el país. En sonora la industria minera es una actividad importante, pero también ha presentado un fuerte problema de contaminación (Monge *et al.*, 2008).

Los efectos que causan los metales en el funcionamiento de los ecosistemas son de importancia tanto económica como de salud pública. Aunque los metales pesados son esenciales en el crecimiento, se ha reportado que algunos también tienen efectos tóxicos. Los metales son difíciles de eliminar del medio, puesto que los propios organismos los incorporan a sus tejidos y estos a sus depredadores en los que se acaban manifestando (Wang *et al.*, 2009).

El cuerpo humano no puede procesar y eliminar los metales, como resultado suelen depositarse en varios órganos internos y grandes cantidades pueden causar reacciones adversas y serios daños al cuerpo. A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales pesados no son biodegradables y cuando se ingieren, se combinan con las biomoléculas del cuerpo como proteínas y enzimas para formar componentes biotóxicos estables, tienden a acumularse en los organismos vivos y muchos iones de metales pesados son conocidos por ser tóxicos o cancerígenos (Duruibe *et al.*, 2007).

Existen procesos biotecnológicos para el tratamiento de residuos líquidos que contienen metales tóxicos, una de ellas es la biosorción. Los microorganismos y sus productos pueden ser bioacumuladores muy eficientes de metales solubles y particulados, especialmente a partir de concentraciones externas diluidas, y con ello las tecnologías basadas en microorganismos ofrecen una alternativa o ayudan a las técnicas convencionales para la eliminación o recuperación de metales. Microorganismos tales como levaduras, hongos, algas, bacterias y cierta flora, tienen la capacidad de concentrar metales a partir de soluciones acuosas diluidas y acumularlas dentro de la estructura microbiana (Mejía, 2006).

Está comprobado que dichos microorganismos los cuales poseen la capacidad o propiedad de secuestrar a los metales se pueden usar para disminuir la concentración de los metales pesados desde partes por millón a partes por billón, secuestrando efectivamente los iones metálicos disueltos, incluso en soluciones diluidas complejas, con una alta efectividad y rapidez, así que por todo lo antes mencionado los microorganismos son una alternativa para el tratamiento de volúmenes elevados de aguas de desecho con bajas concentraciones (Wang *et al.*, 2009).

La biosorción, es la captación de metales que lleva a cabo una biomasa completa, a través de mecanismos fisicoquímicos como la adsorción o el intercambio iónico, llevándose a cabo en principalmente en la pared celular (Mejía, 2006). El proceso de biosorción involucra una fase sólida y una fase líquida que contiene las especies disueltas que van a ser sorbidas. Debido a la gran afinidad de la fase sólida, por las especies de la fase líquida, son atraídas hacia el sólido y enlazado. El proceso continúa hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sólido (Duruibe *et al.*, 2007).

El objetivo general de este estudio fue evaluar la bioadsorción de cobre y zinc utilizando biomasa seca de un consorcio de levaduras aisladas de efluentes contaminados.

## **METODOLOGÍA**

### **Muestreo de aguas contaminadas**

Se tomaron muestras de tres diferentes sitios de aguas procedentes de los desechos de la mina Buena Vista del Cobre en Cananea, Sonora, del río San Pedro. La Estación 1 (E1) con latitud 30°59'36"N y Longitud 110°18'20" O, es una mezcla, donde se juntaban dos diferentes tipos de agua que provenían la primera de las aguas negras de la ciudad que lucían turbias y contaminadas, con olor desagradable y color oscuro y la segunda, agua contaminada con aspecto anaranjado y turbio que se desecha de la mina y ambas se descargan en el lugar. La Estación 2 (E2), latitud 30°59'35" N y longitud 110°18'24"O, es un represito donde deposita sus desechos de agua la mina que a simple vista se notaba muy contaminado y se apreciaba un color espeso y anaranjado. La Estación 3 (E3) con

latitud 30°59'1"N y longitud 110°19'39" O, es un canal de agua que conducía a la E2, aguas de igual modo desechadas de la mina, pero más cercanas a ella, la contaminación se apreciaba a simple vista, de varios colores.

### **Aislamiento**

Se llevó a cabo un enriquecimiento en medios líquidos, caldo nutritivo y en TPY (extracto de levadura (10 g/L), peptona (20 g/L) y dextrosa (20 g/L)) y 10 mL de aguas de cada estación de muestreo. Fueron incubados con agitación durante 24 horas, a 80 rpm y 34 °C. Se sembró a partir de ellos a medios sólidos selectivos y medios generales (agar nutritivo, agar eosina azul de metileno y YPD (Dextrosa 20 g/L, peptona 20 g/L, agar bacteriológico (20 g/L) y extracto de levadura (10 g/L)) por la técnica de placa vaciada. Posteriormente se llevó a cabo una selección de las distintas colonias que presentaron crecimiento en los distintos medios de cultivo de acuerdo a sus características morfológicas, y se realizó el aislamiento de las colonias por el método de siembra por estrías, repitiendo la operación hasta obtener colonias puras.

### **Caracterización macroscópica y microscópica**

La caracterización de las colonias se determinó por dos métodos: caracterización macroscópica y microscópica de las colonias, además de caracterización fenotípica por fermentación de carbohidratos (reacción de Molish), para el caso de levaduras.

La caracterización macroscópica de las colonias se determinó de acuerdo a la observación de su apariencia general: forma, color, tamaño consistencia, elevación y margen. La caracterización microscópica se llevó a cabo por medio de Tinción de Gram y observación al microscopio.

### **Caracterización fenotípica por fermentación de carbohidratos “reacción de Molish”**

En tubos se agregó 1 mL de caldo peptona inoculada de 24 horas con cada levadura aislada. Los carbohidratos utilizados fueron: sacarosa, dextrosa, lactosa, xilosa, maltosa, rafinosa, fructosa y almidón al 20%. Se pesaron 1 g de cada uno y se disolvieron en 5 mL de agua destilada. Los carbohidratos se esterilizaron por filtración con filtros de 0.22 µm de tamaño de poro. Se agregaron al tubo estéril 0.5 mL de carbohidrato estéril y 3 gotas de α-naftol y se mezcló, y por las paredes del tubo se agregó ácido sulfúrico concentrado de 1-2 mL, se observó la interfase, la reacción es positiva si se forma un anillo de color púrpura.

### **Obtención, crecimiento y tratamiento de biomasa**

Se realizó una resiembra o enriquecimiento creando un consorcio de las colonias desarrolladas en el medio sólido característico YPD a caldo TPY. Se prepararon 30 mL de medio para cada matraz de 150 mL utilizados. Se realizó la inoculación, se incubó por 24 horas a 34° C. Se realizó la inoculación en matraces de 2 litros con el crecimiento de cada levadura, agregando aire y se incubó con agitación a 30 °C y 100 rpm. Para determinar el crecimiento de biomasa en base al tiempo se muestrearon 5 mL cada hora por 11 horas y se leyeron por espectrofotometría (Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis) a 600 nm, hasta que llegó a su máximo desarrollo. La biomasa obtenida pasó al proceso de liofilización, para lo cual primero se centrifugó todo el medio con crecimiento de las levaduras, a 6500 RPM para

obtener *pellets* microbianos, esos pellets fueron lavados varias veces con agua deionizada para eliminar todos los restos de caldo nutritivo, hasta que el sobrenadante no muestra turbidez y sea transparente. Se suspendió el *pellet* en agua de deionizada y se procedió a congelar la muestra, ya congelada se llevó al liofilizador (Modelo Labconco Freezone 4.5 (vacío 0.5 mBar y -46°C en el colector) donde permaneció 49 horas.

Para el tratamiento de biomasa, la biomasa en polvo se suspendió en 5 mL de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 M y se agitó por 2 horas a 260 rpm, después se centrifugó por 20 minutos y se decantó el sobrenadante. Se volvió a lavar con agua de deionizada el *pellet* microbiano formado, se agitó y se centrifugó por 17 minutos. Se repitió este proceso hasta obtener un pH de 7 aproximadamente en el sobrenadante.

### **Estudios de bioadsorción del cobre y zinc**

Para realizar la cinética de bioadsorción se prepararon soluciones de cobre a 20 mg/L y 50 mg/L para el zinc. Se ajustó el pH (3-4) con HCl y/o NaOH. Se hizo por duplicado para cada metal. Se tomaron muestras de 5 mL de cada matraz a tiempo cero, sin biomasa. A los matraces Erlenmeyer con las soluciones, se les agregó 0.1 g de biomasa seca pre-tratada y sin tratar, se colocaron en la incubadora con agitación (Modelo C76 Water Bath Shaker), 100 rpm, 30°C y se tomaron muestras durante 180 minutos, después se tomó una muestra a las 24 horas y una más a las 48 horas, para analizar la concentración por espectrofotómetro de absorción atómica. El análisis de las muestras se realizó utilizando el equipo de absorción atómica Perkin Elmer modelo Analyst 400, y de esta manera se obtuvieron los valores de concentración de Cu y Zn en mg/L.

### **Caracterización de la biomasa seca sin tratar del consorcio de levaduras**

La biomasa de levaduras sin tratar fue analizada antes y al término de los experimentos de bioadsorción de cobre y zinc. La biomasa fue recuperada de las soluciones en microtubos de Eppendorf, se centrifugó en una centrífuga (Eppendorf modelo 5424) a 6500 rpm por 3 min, después la biomasa fue secada en un horno a una temperatura de 70°C, para eliminar el exceso de agua de la biomasa.

### **Análisis por microscopía electrónica de barrido (MEB) y espectroscopía por dispersión de energía de rayos X (EDS)**

Las observaciones de microscopía electrónica se realizaron tomando una muestra pequeña de la biomasa seca sin tratar y se recubrieron con oro antes de su observación en el Microscopio Electrónico de Barrido (PEMTRON SS 300 + EDS Broker) y Hitachi TM3030 Plus Tabletop microscope + EDS Broker.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis del muestreo y aislamiento**

Las características del muestreo de las aguas de las Estaciones E1, E2 y E3 del río San Pedro se muestran en la tabla 1. La NOM-001-ECOL-1996 establece una concentración máxima descarga en

aguas nacionales de 6 mg/L para el cobre y 20 mg/L para el zinc, por lo que las estaciones 2 y 3 rebasan los límites máximos permisibles. Las colonias aisladas fueron 18, de las cuales se seleccionaron las que crecieron en medio YPD, catalogadas como levaduras para realizar los estudios de caracterización e identificación.

**Tabla 1. Características del muestreo realizados a aguas contaminadas del río San Pedro**

Muestra	E1	E2	E3
Temperatura	25 °C	21 °C	21 °C
pH	7.2	4.2	3.5
Concentración de cobre y zinc, mg/L	1.57 y 1.72	7.5 y 48.5	17.3 y 43.0
Colonias aisladas	13	2	3

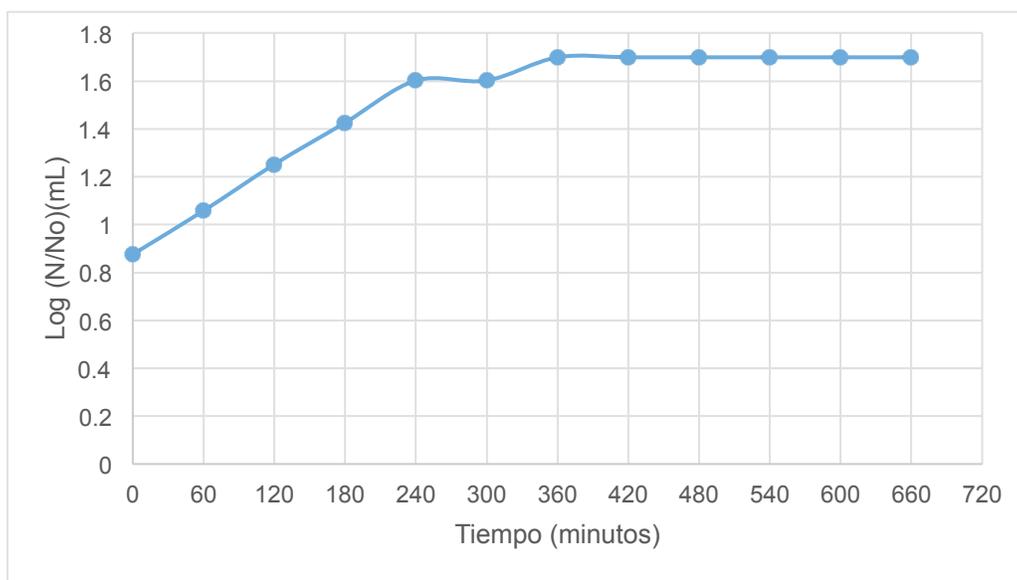
#### **Caracterización macroscópica y microscópica**

La caracterización macroscópica de las colonias, fue un análisis visual de las colonias obtenidas, se caracterizaron por tener un color blanco-transparente, pequeño y brillante. La caracterización microscópica, fue mediante el método de tinción de Gram de las células, y se observaron al microscopio solo las levaduras, las cuales fueron Gram positivas, presentaron formas esféricas y óvalos alargados.

Para la identificación de levaduras realizada por caracterización fenotípica con fermentación de carbohidratos, fueron comparados los resultados con tablas reportadas por Madigan *et al.* (2004), e identificadas como: *Trichosporon asahii*, *Candida glabrata*, *Candida pseudotropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus terreus* y *Candida parapsilosis*.

#### **Obtención de biomasa**

La obtención de biomasa fue con el consorcio de las levaduras, como se muestra en la figura 1, donde se observa el desarrollo de la biomasa. El crecimiento de la biomasa fue desde la primera hora, después siguió el crecimiento que se mantuvo constante desde las 6 hasta las 11 horas, cuando alcanzó el máximo desarrollo, después del proceso de liofilización se obtuvo una producción de 3.4 g/L.

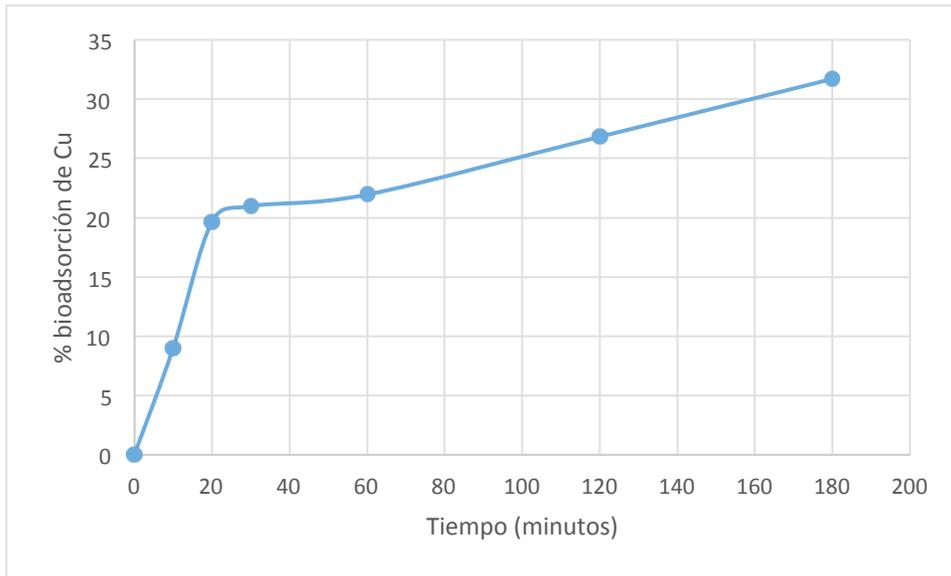


**Figura 1. Desarrollo poblacional del consorcio de levaduras.**

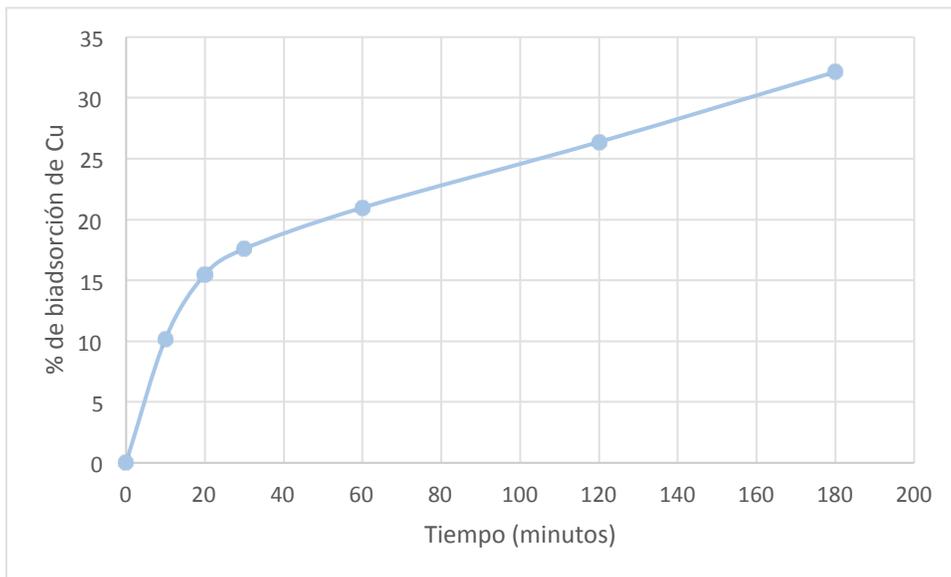
### **Bioadsorción del cobre y zinc en sistema por lotes**

Los resultados para la bioadsorción de cobre (Cu) utilizando un consorcio de levaduras formado con las especies *Trichosporon asahii*, *Candida glabrata*, *Candida pseudotropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus terreus* y *Candida parapsilosis*, sin tratar, se pueden observar en la figura 2, donde se logró obtener un 31.7 % de bioadsorción de cobre en los primeros 180 minutos, un 41.34% de bioadsorción a los 1440 minutos (24 horas) y un 46.58 % de bioadsorción a los 2880 minutos (48 horas) (ver tabla 2), demostrando así que la bioadsorción es más rápida en los primeros minutos y el mayor porcentaje de bioadsorción se obtiene a los 48 horas.

El proceso de bioadsorción de Cu utilizando biomasa pre-tratada con hidróxido de sodio 0.1 M, se realizó con el propósito de mejorar la capacidad funcional de bioadsorción de la biomasa, la cinética de adsorción se puede observar en la figura 3, que permite apreciar un resultado de un 32.13% de bioadsorción a los 180 minutos, un 36.18% de bioadsorción después de 1440 minutos (24 horas) y un 42.9% de bioadsorción después de 2880 minutos transcurridos (48 horas) (ver tabla 2), demostrando de igual modo que en la biomasa sin tratar la bioadsorción es más rápida en los primeros minutos y el mayor porcentaje de bioadsorción se da a las 48 horas. Shroff *et al.*, 2012, trabajaron con tratamiento ácido de biomasa seca, y reportan resultados de mayor a menor concentración en la bioadsorción de metales. En el caso del cobre, hay estudios que reportan que la adsorción de cobre con biomasa de levaduras tratada con NaOH y etanol, mejora las propiedades de bioadsorción (Zhang *et al.*, 2010).



**Figura 2. Porcentaje de bioadsorción para el cobre con biomasa de levaduras seca sin tratar.**

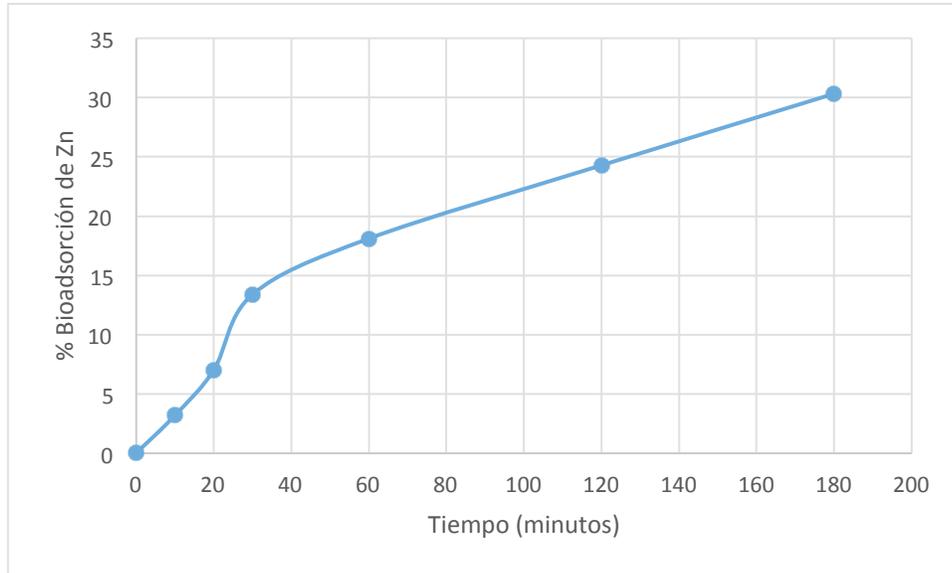


**Figura 3. Porcentaje de bioadsorción para el cobre con biomasa de levaduras seca pre-tratada.**

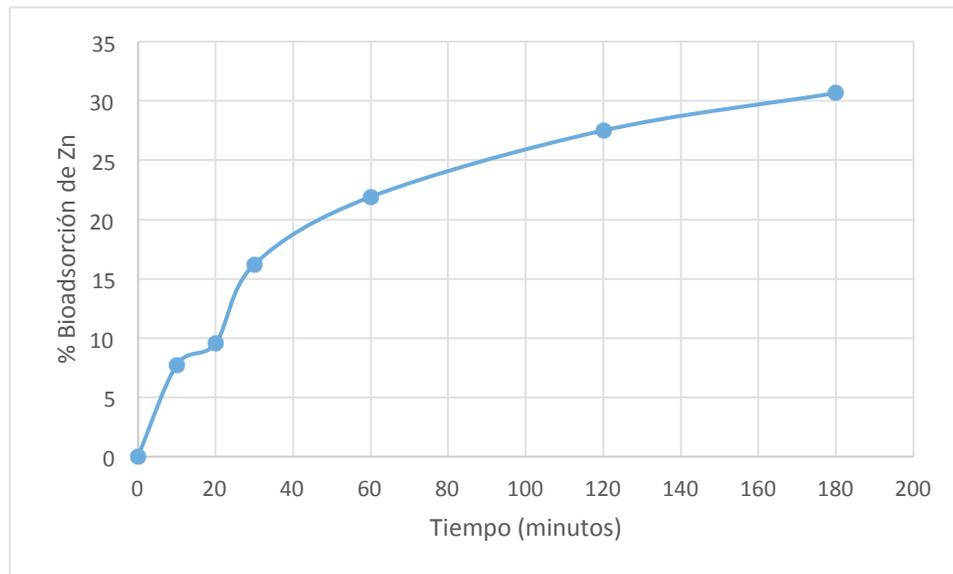
Con la biomasa seca formada del consorcio de levaduras se evaluó la bioadsorción de zinc (figura 4), donde se logró obtener un 30.33% de bioadsorción en los primeros 180 minutos, un 35.3% de bioadsorción a los 1440 minutos (24 horas) y un 38.86% de bioadsorción a los 2880 minutos (48 horas) (ver tabla 2). Cuando se utilizó la biomasa de levaduras seca pre-tratada (figura 5) se logró obtener un 30.66% de bioadsorción en los primeros 180 minutos, un 34.68% de bioadsorción a los 1440 minutos (24 horas) y un 40.28% de bioadsorción a los 2880 minutos (48 horas) transcurridos (ver tabla 2), demostrándose de igual manera, en las dos situaciones que la bioadsorción es más

rápida en los primeros 180 minutos y tiene un mayor porcentaje de bioadsorción en los 2880 minutos (48 horas). En la tabla 2 se muestran los resultados de bioadsorción de cobre y zinc con biomasa seca pre-tratada con NaOH y sin tratar a los 2880 minutos (48 horas).

Esta biomasa presenta una preferencia de adsorción mayor del cobre que para el zinc tanto con biomasa pre-tratada y sin tratar. El porcentaje de remoción de metales pesados en soluciones acuosas depende de la cantidad del metal que biosorbe la biomasa y esta cantidad a su vez, es función de la capacidad de intercambio de la biomasa-metal (Platt, 2011).



**Figura 4. Porcentaje de bioadsorción para el zinc con biomasa de levaduras seca sin tratar.**



**Figura 5. Porcentaje de bioadsorción para el zinc con biomasa de levaduras, seca pre-tratada.**

**Tabla 2. Resultados de bioadsorción de cobre y zinc con biomasa seca pre-tratada con NaOH y sin tratar a las 48 horas.**

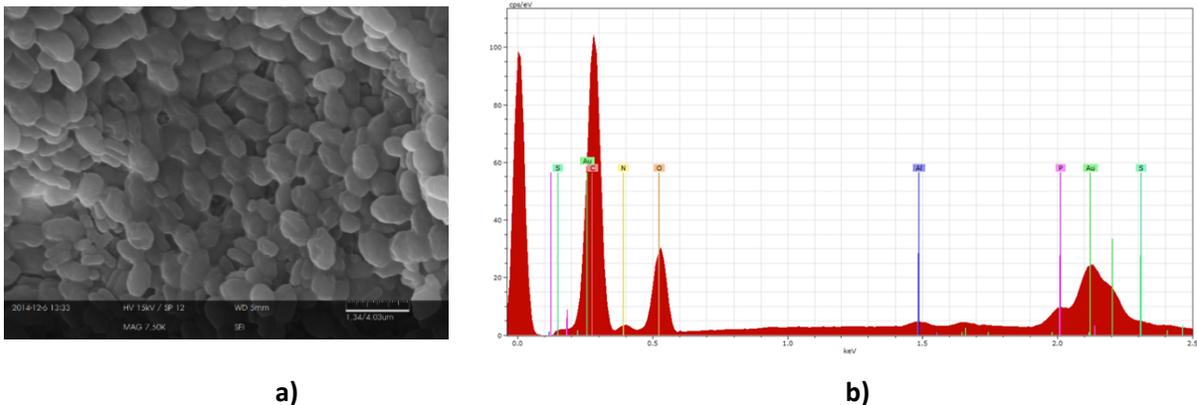
	Biomasa seca Pre-tratada (%)	Biomasa seca Sin tratar (%)
Cobre	42.9	46.58
Zinc	40.28	38.86

**Caracterización de biomasa seca del consorcio de levaduras sin tratar**

En la figuras 6a se muestra la fotomicrografía de la biomasa seca de levaduras sin tratar y sin metales, esta fotomicrografía fue realizada a la biomasa antes de los experimentos de bioadsorción en sistema por lotes y se observa la forma de las levaduras muy definidas. En la figura 6b se muestra el EDS en donde se puede observar que existen otros elementos pero no cobre y zinc.

En la figura 7a se muestra la fotomicrografía de la biomasa seca de levaduras sin tratar después del proceso de bioadsorción del cobre y se observa un aglomeramiento y la forma de las levaduras, y en la figura 7b se muestra el EDS en donde se puede observar que existen otros elementos además del cobre.

En la Figura 8a se muestra la fotomicrografía de la biomasa seca de levaduras sin tratar después de la bioadsorción del zinc y se observa la forma de las levaduras pero no tan definidas como cuando no tiene el metal y en la Figura 8b se observa el EDS, donde se muestran que existen otros elementos además del zinc.



**Figura 6. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas del sistema biomasa-sin metal del proceso de bioadsorción de biomasa seca de levaduras sin tratar.**

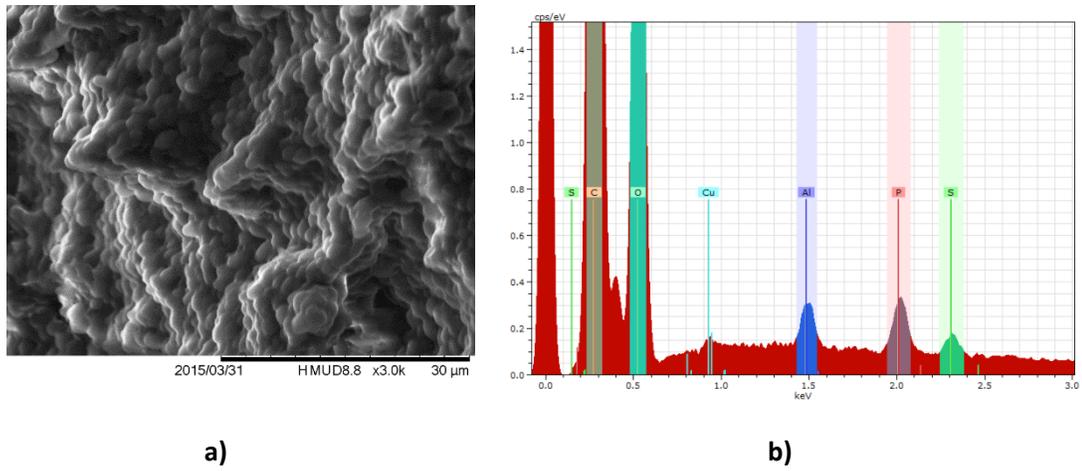


Figura 7. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas del sistema biomasa-con metal del proceso de bioadsorción de biomasa de levaduras seca sin tratar después de la bioadsorción de cobre.

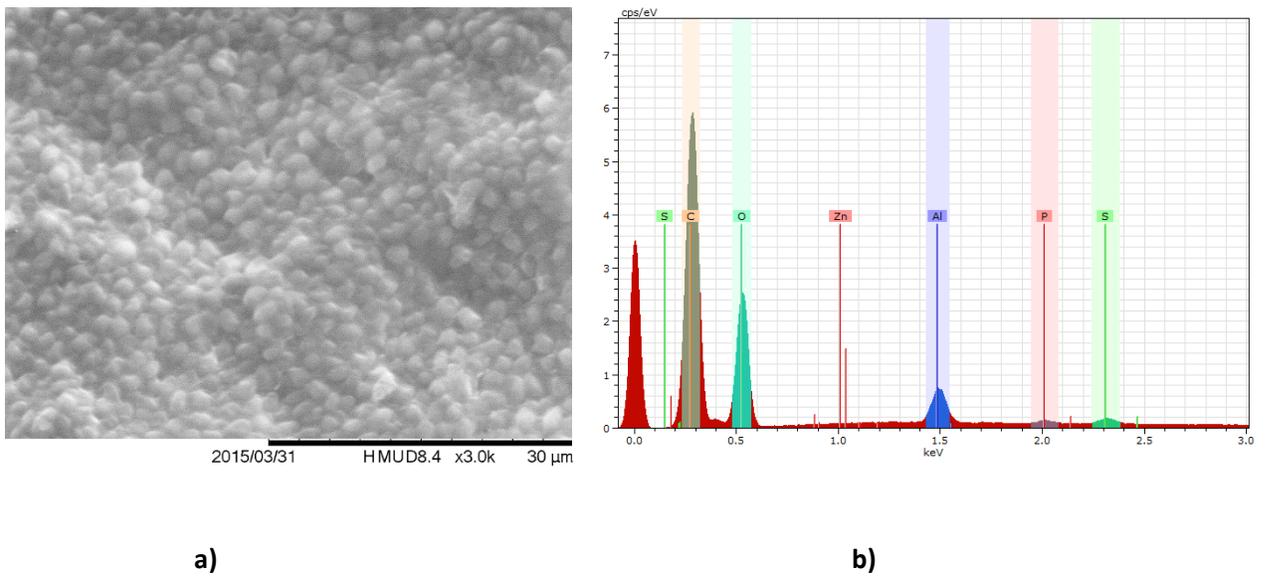


Figura 8. a) Fotomicrografía y b) EDS representativas del sistema biomasa-con metal del proceso de bioadsorción de biomasa de levaduras seca sin tratar después de la bioadsorción de zinc.

## CONCLUSIONES

Se lograron aislar e identificar las levaduras de los efluentes contaminados del río San Pedro. Se obtuvo un liofilizado del consorcio de levaduras aisladas y con los estudios de MEB se mostró la integridad celular de las levaduras. No se observó una diferencia significativa en los procesos de bioadsorción utilizando biomasa seca pre-tratada y sin tratar con ambos metales. La caracterización por MEB y EDS corroboró la presencia de los metales de cobre y zinc en la biomasa de levaduras después del tratamiento.

El proceso de bioadsorción de cobre y zinc con biomasa seca de levaduras sin tratar representa una alternativa de solución para la disminución de la concentración de Cu y Zn.

## REFERENCIAS

- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.O.C., & Egwurugwu, J.N. (2007). Contaminación de metales pesados y efectos biotóxicos humanos. *International Journal of Physical Sciences*, 2 (5), 112-118.
- Lucho, C.A., Prieto, F., Del Razo, L.M., Rodríguez, R. & Poggi, H. (2005). Chemical fractionation of boron and heavy metals in soils irrigated with wastewater in central Mexico. *Agric. Ecosyst. Environ.* 108, 57-71.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J. (2004). Brock. Biología de los microorganismos. Décima edición. Pearson Prentice Hall. España. 137-166.
- Mejía Sandoval, G. (2006). Aproximación teórica a la biosorción de metales pesados por medio de microorganismos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, vol. 1, Pp. 77-99.
- Monge, O., Valenzuela, J., Acedo, E., Certucha, M. & Armendáriz, J. (2008). Biosorción de cobre en sistema por lote y continuo con bacterias aerobias inmovilizadas en zeolita natural (clinoptilolita). *Rev. Int. Contam. Ambient*, 24, 101-108.
- Platt Sánchez, L.C. (2011). Estudio de biosorción de metales pesados de un efluente de origen antropogénico utilizando *Escherichia coli*. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora. 1-62.
- Shroff Kshama, A., Vaidya Varsha, K. (2012). Effect of pre-treatments on the biosorption of Chromium (VI) ions by the dead biomass of *Rhizopus arrhizus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 87,2. 294-304.
- Wang, J. & Chen, C. (2009). Biosorbents of heavy metals and their future. *Journal of biotechnology advances*. 27, 195-226.
- Zhang, Y., Liu, W., Xu, M., Zheng, F. & Zhao, M. (2010). Study of the mechanisms of Cu<sup>2+</sup> biosorption by ethanol/caustic-pretreated baker's yeast biomass. *Journal of Hazardous Materials*. 178: 1085-1093.

## CAPÍTULO IX

# PRESENCIA DE HELMINTOS EN AVES DE POSTURA EN UNA GRANJA DEL SUR DE SONORA

**Munguía Xóchihua, J.A.; Hernández Martínez, M.A.; Flores Rodríguez, L.A.; Molina Barrios, R.M., y Cedillo Cobián J.R.**

Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de febrero 818 sur. Cd. Obregón, Sonora. 01(644) 4109000. [javier.munguia@itson.edu.mx](mailto:javier.munguia@itson.edu.mx)

**Palabras clave:** parásitos, huevo, semiárido.

### RESUMEN

En la producción intensiva de aves de postura se tienen que controlar los factores ambientales, manejo, nutrición y sanitarios, dentro de estos últimos los agentes parasitarios merman en forma subclínica la producción avícola. El objetivo fue determinar la frecuencia y los géneros de céstodos presentes en aves de postura en una explotación avícola en el Sur de Sonora. Se muestrearon dos líneas con aves *Bovans White*. El tamaño de muestra se determinó por medio de la fórmula de muestreo simple aleatorio donde se obtuvo 472 muestras, las cuales se obtuvieron recolectando debajo de las jaulas con bolsas de plástico que se identificaron por grupo, edades y por fila de jaulas. El total por día recolectado se colocaron en una bolsa grande, y se identificaron para posteriormente ser enviadas al Laboratorio de Parasitología del Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias del Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Nainari, en donde se le realizaron las técnicas para obtención de huevos de parásitos gastrointestinales, cualitativa de flotación y cuantitativa de Mc Master. Los resultados obtenidos muestran que de las caseta 1 y 2 de un total 472 muestras de las cuales 231 (48.9%) fueron positivas y 241 (51.1%) negativas. En la caseta 1 de 283 muestras 177 (62.5 %) fueron positivas y 106 (37.5%) negativas. Se encontró 236 infecciones individuales, 50 dobles y 3 triples. Se encontró la presencia de *Eimeria* spp. 40.2%, *Strongyloides* spp. 30.5%, *Ascaridia galli* 3.3%, *Raillietina* spp. 1.1%, *Trichostrongylus* spp. 1.1%. En la caseta 2 de 189 muestras 54 (28.6%) fueron positivas y 135 (71.4%) fueron negativas. Con 73 con infestaciones sencillas, 16 dobles y 2 triples. Se encontró la presencia de *Eimeria* spp. 6.9%, *Strongyloides* spp. 21.1%, *Heterakis gallinae* 9%, *Trichostrongylus* 1%, *Amidostomum* spp. 1%. Se concluye que se demuestra la presencia de nemátodos, céstodos y protozoarios gastrointestinales en aves de postura en batería, lo cual no es común, por lo que es necesario realizar un programa de control específico para disminuir o evitar los efectos detrimentales en el crecimiento y producción de huevo en la explotación en estudio del Sur del Estado de Sonora.

### INTRODUCCIÓN

La avicultura en México tiene un crecimiento continuo, principalmente en la cría de pollo de engorda y de gallinas ponedoras, en donde se eficientiza el espacio para obtener la mayor productividad, ya

sea en kilos de carne o huevo, para disponer de mayor cantidad de proteína de origen animal a una población humana en constante crecimiento.

Como todas las especies domésticas, las aves pueden ser afectadas por agentes patógenos, como son las bacterias, virus y parásitos, donde se han estudiado más a fondo los primeros dos mencionados por el alto porcentaje de morbilidad y mortalidad que ocasionan, a diferencia de los agentes parasitarios que se presentan por lo general en forma subclínica, sus efectos patógenos unidos a otros factores, afectan la conversión alimenticia afectando la producción de huevo, se favorece la presencia de otros agentes patógenos y en ocasiones hasta la muerte del huésped (Wongrak *et al.*, 2015).

La avicultura tiene un papel importante en el sector pecuario del Estado de Sonora, debido a las características geográficas y el tipo de clima semiárido, tiene producción de huevo en baterías en granjas tecnificadas, por lo que es necesario el control del clima extremo que se presenta en la región, proporcionar condiciones de temperatura controladas, una adecuada nutrición y nivel sanitario de agentes patógenos entre ellos los parasitarios se favorecerá obtener óptimos niveles de producción. Debido a lo anteriormente expuesto, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia de helmintos en una granja tecnificada de gallinas en producción de huevo.

## **METODOLOGÍA**

### **Localización del estudio**

Se realizó en una granja de aves productora de huevos, ubicada en el campo 29, con dirección a la calle Luis Donald Colosio Murrieta número 128; dentro de los límites del Municipio de Cajeme, del cual Ciudad Obregón, es la cabecera y segunda ciudad en tamaño e importancia del Estado de Sonora, México.

El clima es seco y caluroso durante todo el año, con días soleados y noches claras. En julio, agosto y septiembre son los meses más lluviosos del año. Durante verano se pueden presentar tormentas así como tormentas de arena, y durante el invierno la temperatura nocturna baja considerablemente. La temperatura media anual es de 25 °C (<http://www.pricetravel.com.mx/ciudad-obregon/clima>).

### **Características de la granja**

El estudio se realizó en una granja del Sur de Sonora, que tiene dos casetas con un pasillo central y dos por cada lado de las baterías, con aves de la línea *Bovans White* de entre 70 y 90 semanas de edad, alojadas en jaulas de dos pirámides con tres o cuatro aves por jaula. La sección 1 es una caseta del tipo rústico con aves de 90 semanas de edad, ésta cuenta con cuatro filas sencillas de jaulas; la sección 2 aloja aves más jóvenes de 70 semanas de edad, es de tipo convencional con cuatro filas de jaulas de pirámide con dos niveles, en ambas se tenía una población de 1400 aves.

### **Determinación del tamaño de muestra**

Se determinó por medio de la fórmula de muestreo simple aleatorio (Scheaffer y Mendenhall, 1987), se obtuvo un tamaño de muestra de 472, las cuales se recolectaron 20 muestras por fila de jaulas en

el caso de la caseta rústica, en total fueron 80 muestras por muestreo; en el caso de la caseta convencional se tomaron de las cuatro filas 20 muestras por fila de jaulas para obtener 472 muestras. Las muestras de heces se recolectaron cada 15 días por 2 meses. Estas se obtuvieron debajo de las jaulas con bolsas de plástico, con una separación de 5 a 10 jaulas por toma de muestra. Se identificaron por grupo, edades y por fila de jaulas. Se colocaron en una bolsa grande por fila de jaulas de muestreo para inmediatamente ser trasladadas al Laboratorio de Parasitología del Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias (CAV) del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON) Unidad Náinari, en donde se le realizaron las pruebas coproparasitoscópicas cualitativa de flotación y cuantitativa de McMaster, ésta última indica el número de huevos presentes por gramo de heces (Hendrix, 1999 y Munguía, 2014). Los resultados se muestran en estadística gráfica descriptiva (Wayne, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En dos casetas se tomó un total de 472 muestras, de las cuales 231 (48.9%), fueron positivas y negativas 241 (51.1%). En la caseta 1, de 283 muestras, 177 (62.5%) fueron positivas y 106 (37.5%) negativas. Se encontraron 236 infecciones individuales, 50 dobles y 3 triples. En la caseta 2, de 189 muestras, 54 (28.6%) fueron positivas y 135 (71.4%) fueron negativas. Se encontraron 73 muestras con infestaciones sencillas, 16 dobles y 2 triples (tabla 1).

Los resultados demuestran que existe mayor frecuencia de parásitos gastrointestinales en la caseta 1, la cual es menos tecnificada. Por género parasitario se encontró a *Eimeria* spp. 40.2 %, *Strongiloides* 30.5 %, *Heterakis* spp. 28.2%, *Ascaridia galli* 3.3 %, *Raillietina* spp. 1.1%, y *Trichostrongylus* 1.1 % (tabla 2 y figura 1).

En la caseta 2 se encontró la presencia de *Eimeria* spp. 6.9%, *Strongyloides* spp. 21.1%, *Heterakis gallinae* 9%, *Trichostrongylus* 1%, *Amidostomum* spp. 1% (tabla 2 y figura 2).

Resultados similares fueron encontrados en dos granjas productoras de huevo en el Sur de Sonora (Gutiérrez, 2010). Se ha reportado que la *Musca doméstica* es el principal vector de los céstodos en aves pero no hay referencia en su participación en el ciclo biológico de otros parásitos encontrados en este estudio como *Heterakis gallinae*, *Ascaridia galli*, *Trichostrongylus* spp., *Amidostomum* spp., lo cual sugiere que estos insectos intervienen en el ciclo biológico de otros agentes parasitarios, supuesto que hay que comprobar.

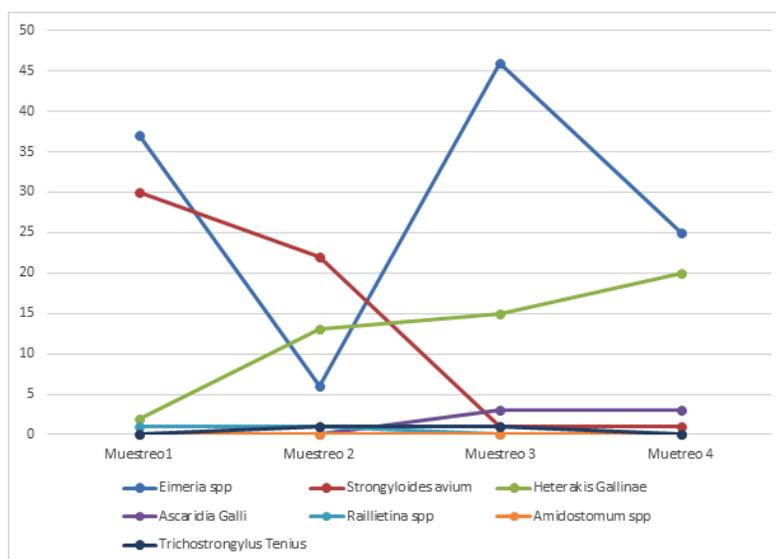
Para ambas casetas se muestra que hay cantidad importante de huevos u ooquistes por gramo de heces, en la caseta 1 se muestra que los parásitos con mayor cantidad de HGH son: *Eimeria* spp., *Heterakis gallinae*, *Strongyloides* spp. y *Trichostrongylus* spp.; para la caseta 2 son: *Eimeria* spp., *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinae*, *Strongyloides* sp.p y *Trichostrongylus* spp., lo cual es indicativo que el ciclo evolutivo de estos parásitos está establecido en ambas casetas de aves de postura del estudio (tablas 3 y 4).

**Tabla 1. Número y porcentaje de parásitos en una explotación de gallina de postura del Sur de Sonora, México.**

<b>Caseta 1</b>							
Muestras	Positivas	%	Negativas	%	Individuales	Dobles	Triples
283	177	62.5	106	37.5	236	50	3
<b>Caseta 2</b>							
189	54	28.6	135	71.4	73	16	2

**Tabla 2. Porcentaje de frecuencia de helmintos y protozoarios presentes en una explotación de gallinas de postura del Sur de Sonora, México.**

<b>Caseta 1</b>		<b>Caseta 2</b>	
Parásito	Porcentaje %	Parásito	Porcentaje %
<i>Eimeria</i> spp	40.2	<i>Eimeria</i> spp	6.9
<i>Strongyloides</i> spp	30.5	<i>Strongyloides</i> spp	21.1
<i>Heterakis gallinae</i>	28.2	<i>Heterakis gallinae</i>	9
<i>Ascaridia galli</i>	3.3	<i>Ascaridia galli</i>	0
<i>Rallietina</i> spp	1.1	<i>Rallietina</i> spp	0
<i>Trichostrongylus</i> spp	1.1	<i>Trichostrongylus</i> spp	1
<i>Amidostomum</i> spp	0	<i>Amidostomum</i> spp	1



**Figura 1. Total de muestras positivas y parásitos en caseta 1 en una granja del Sur de Sonora.**

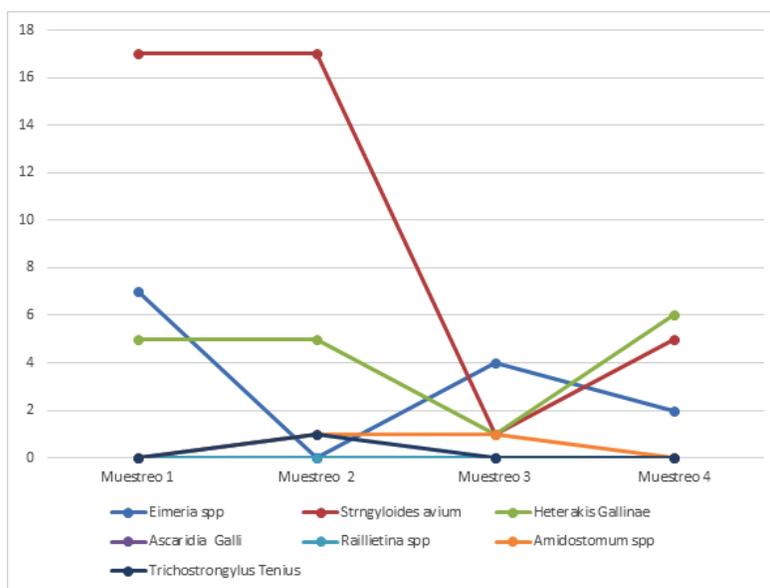


Figura 2. Total de muestras positivas y parásitos en caseta 2 en una granja del Sur de Sonora.

Tabla 3. Promedio de huevos por gramo de heces en caseta 1, en una explotación de gallinas de postura del Sur de Sonora, México.

Género Parasitario	Muestreo		h/g/h						Rango
	1	Rango	2	Rango	3	Rango	4	Rango	Total
<i>Eimeria spp</i>	27.28	50- 8250	7.48	50 - 250	0	0	2.64	50 - 150	50-8250
<i>Ascaridia galli</i>	9.24	0 - 800	7.94	0- 200	11.54	0 - 800	3.56	0	50 - 800
<i>Heterakis gallinae</i>	28.75	0 - 900	68.37	0 - 550	3	0 - 150	5.87	0 - 850	50-900
<i>Strongoides avium</i>	24.41	50 - 4250	20.98	0 - 2000	30.51	0 - 100	9.41	0 - 50	50 - 4250
<i>Trichostrongylus tenuis</i>	0	0	0	0	5	50- 1350	67.5	0 - 50	0 - 100
<i>Amidostomum spp</i>	0	0	0	0	100	0- 100	0	0	0 - 100
<i>Raillietina spp</i>	0	0	0	0	100	0- 100	0	0	0 - 100

**Tabla 4. Promedio de huevos por gramo de heces en caseta 2, en una explotación de gallinas de postura del Sur de Sonora, México.**

Género Parasitario	Muestreo		h/g/h						Rango
	1	Rango	2	Rango	3	Rango	4	Rango	Total
<i>Eimeria</i> spp	28.14	0 - 250	0	0	6	0 - 350	22.7	0 - 100	100- 350
<i>Ascaridia galli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Heterakis gallinae</i>	18.7	0-2300	17	0-550	24.56	0-150	27.94	0-400	50-2300
<i>Strongoides avium</i>	40	0-2300	20	0-8940	30	0-50	25	0-50	50-8940
<i>Trichostrongylus tenuis</i>	0	0	0	0	100	0 - 100	0	0	0-100
<i>Amidostomum</i> spp	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rallietina</i> spp	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Es frecuente que sea un tema de discusión la hora de toma de muestras granjas de aves, un estudio mostró que los picos de consumo de alimento en gallinas de postura son de 8-10 Am y de 17:00 a 19:00 hrs (Choi *et al.*, 2004), ya que por lo general, después de alimentarse se activa el reflejo de defecación, por ello la hora de muestras en el día es un factor a considerar para encontrar huevos en las heces, el fenómeno de excreción de huevos por medio de las heces al ambiente presenta variables que afectan su presencia como son: concentración de las heces, cantidad diaria, consistencia, y el flujo de las heces (Wongrak *et al.*, 2015). Además hay otros factores como son: la variación en la fecundidad y excreción de huevos de cada parásito, distribución desigual en las heces, resistencia del huésped, y baja sensibilidad de la prueba diagnóstica utilizada para determinar la presencia de huevos en heces, un estudio demostró que la excreción de huevos de nemátodos en aves es mayor en el día que durante la noche (Wongrak *et al.*, 2015). La toma de muestras en la mañana en este estudio fue adecuado y los factores mencionados no influyeron en el resultado al encontrarse huevos y ooquistes en heces, evidenciando la presencia de una variedad de helmintos y protozoarios en la granja en estudio.

Con respecto a los factores que tienen influencia en el resultado de la técnica coprológica son: tipo y densidad de la solución concentradora y procedimiento de la técnica de flotación, fueron controlados en el laboratorio de Parasitología del Instituto Tecnológico de Sonora; pero los factores biológicos como tipo de huevo, fluctuaciones dentro y entre días de eliminación de huevos, consistencia de las heces, agrupación de los huevos dentro de las heces, la cantidad de huevos diaria, varía en el curso de la infección, y la cantidad diaria de toma de heces también pueden influir en la precisión de la cantidad representativa (carga de adultos), en los promedios de HGH (Gurbuz *et al.*, 2011 y Gurbuz *et al.*, 2014).

Por medio de la presencia de huevos en heces se puede estimar la intensidad de la infección, es un proceso universal para determinar la concentración de huevos que se expresa en huevos por gramo de heces (HGH), este valor se utiliza para varios propósitos como diagnóstico y resistencia a compuestos químicos (Stear *et al.*, 2007; Villanueva *et al.*, 2006).

Al encontrarse diferentes huevos y ooquistes de protozoarios queda evidente que los factores del huésped, del parásito y de la técnica diagnóstica no fueron de consideración y se muestra la presencia de diferentes cargas de huevos por gramo de heces como se muestra en las tablas 3 y 4.

En un estudio realizado en gallinas de traspatio se encontró una frecuencia en orden descendente: *Heterakis spp.* con 86.7 %, *Strongiloides avium* en un 74,5 %, *Raillietina tetragona* con 64.3 %, y *Ascaridia galli* con 34,7 % (Luna-Olivares *et al.*, 2006). Se infiere que el sistema de producción de gallinas de traspatio de forma libre influye directamente en el ciclo biológico de las parasitosis, afectando directamente en la producción tanto de huevo como de carne, es por ello que es muy importante tomar medidas adecuadas, tanto en el aspecto alimenticio como el sanitario (Pardo, 2000); con esta información se infiere de la importancia que tienen las instalaciones tecnificadas o semi tecnificadas para la higiene y salud de las aves en producción.

Se realizó un estudio en pollo de engorda en Arkansas USA, se observaron los intestinos en los cuales se encontró *Ascaridia galli* 37.3%, *Raillietina cesticii* 67.2% y *Heterakis gallinarum* 7.5% (Wilson, *et al.*, 1994). Un estudio realizado en gallinas ponedoras en piso evaluando el tipo de cama encontró que hay una relación con el tipo de cama y la frecuencia de parásitos que fueron: *Ascaridia galli* menos del 10%, *Heterakis gallinarum* del 68-80% y *Capillaria spp.* de 30-58% (Maurer *et al.*, 2009). Los tres estudios muestran que son frecuentes las parasitosis en granjas tecnificadas con crianza en piso y en crianza orgánica de aves.

Los géneros de *Ascaridia*, *Heterakis*, *Capillaria* y *Syngamus* son por lo general los nemátodos comunes en la producción avícola de traspatio o no tecnificada. El nemátodo *Ascaridia* puede reducir la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia, no afecta mucho a pollos de engorda por el corto periodo de vida de estas aves. En forma ocasional se le ha encontrado en aves en producción de huevo (Ruff, 1999). En relación al trabajo realizado tiene cierta relación pues encontramos presencia de dos de ellos *Ascaridia spp.* en la caseta uno que es del tipo rústico y presencia de *Heterakis gallinarum* con mayor porcentaje en las dos casetas, también se presentó *Ascaridia galli* los cuales están asociados a disminución de la producción y la salud de sus huéspedes (Permin *et al.*, 2003).

Los céstodos se encuentran con frecuencia en producción de aves de traspatio, es un problema poco común en aves en producción de engorda, aunque se ha encontrado hasta un 70% de aves de engorda infectadas. Los céstodos por lo general causan pocas lesiones y daños (Ruff, 1999).

La presencia de céstodos, nemátodos, y protozoarios encontrados en este estudio sugieren que se estableció en el caso de la presencia de *Raillietina spp.*, *Ascaridia galli* y *Heterakis gallinae*, un ciclo biológico que permite la infestación influida por la presencia de larvas y adultos de *Musca doméstica* y *coleópteros coprófagos* (Cordero y Rojo, 1999), el supuesto es que las fases evolutivas (larvas) que se desarrollan en las heces de las aves, consumen sus huevos, se libera la larva del parásito que se enquistó en tejidos de las larvas, cuando los insectos adultos emergen de alguna forma estos son consumidos por las aves y se desarrolla el estado adulto de los parásitos en las aves.

Para el establecimiento de un ciclo biológico se debe considerar los factores internos de las casetas; limpieza, humedad e instalaciones, así como los factores externos de la granja como son la limpieza, instalaciones y otras explotaciones vecinas que se encuentra a su alrededor, son factores que favorecen la presencia de los huéspedes intermediarios en las casetas de aves de postura y son parte del establecimiento del ciclo biológico en las explotaciones avícolas.

También se reporta la presencia de *Hymenolepis spp.*, *Raillietina spp.*, *Trichostrongylus spp.* (Quiroz, 1984 y Soulsby, 1987), *Amoebotaenia cuneata*, *Choanotaenia infundibulum*, *Davainea proglottina*,

*Echinostoma revolutum*, *Hymenolepis* spp., *Raillietina* spp. (Gordon y Jordan, 1985). Pero no se indica en qué tipo de explotación.

Un estudio previo realizado en la región del Valle del Yaqui en dos granjas de gallinas de postura se encontró los siguientes parásitos: En la granja uno se encontró un porcentaje global de los parásitos encontrados en dos secciones: En la sección 10 se presentó con mayor frecuencia *Heterakis gallinarum* (36%), *Hymenolepis* spp. (22.66%), *Raillietina* spp. (6.66%); en la sección 4 se localizó a *Trichostrongylus* spp. (38.88%), *Hymenolepis* spp. (5.55%), *Raillietina* spp. (5.55%) (Gutiérrez, 2010). El estudio anteriormente mencionado no encontró la presencia de *Eimeria*; como aconteció en este estudio (tablas 2, 3 y 4) en aves de postura, por lo que toma relevancia por no haber reportes en este tipo de explotaciones.

Son siete especies de *Eimeria* que infectan a los pollos y son muy específicas de huésped, que causan hemorragia (*E. brunetti*, *E. necatrix* y *E. tenella*), mala absorción (*E. acervulina*, *E. máxima*, *E. mitis* y *E. praecox*), unas más patógenas que otras. Son protozoarios de alta prevalencia y pueden persistir en el ambiente, incluido en las heces y basura (que sirve como cama o sustrato). Todos los pollos y gallinas que son expuestos pueden ser infectados. En producciones con mal manejo sanitario se presenta alta morbilidad y mortalidad, si las infecciones son parcialmente controladas se convierte en enfermedad subclínica, que es común y es económicamente relevante por afectar la conversión alimenticia, incrementar el consumo de alimento, pérdida de pigmento en la piel, pérdida y baja ganancia de peso, que se traduce en una reducción en la producción de huevo y disminución en el crecimiento, en pollo de engorda y gallinas de postura, así como se pueden presentar asociación bacterianas que aumentan el impacto en la disminución en la producción y mortalidad (Ruff, 1999 y Blake y Tomley, 2014).

Para el control de la coccidiosis es importante realizar las acciones adecuadas como limitar la esporulación de los ooquistes, restringir el acceso de las aves a las heces infectadas, tener limpia la cama, control adecuado de los niveles de temperatura, humedad y ventilación, así como limpieza sistemática bajo y entre las baterías de las casetas. Así como el control por medio de compuestos químicos que pueden ser coccidicidas o coccidiostatos (Blake y Tomley, 2014). Este estudio mostró que la mayor prevalencia fue de *Eimeria* spp., por lo cual es necesario determinar la fuente de infección, así como tomar medidas drásticas para evitar o disminuir la presencia del protozoario y de este modo evitar los daños que ocasiona a sus huéspedes, afectando sus características productivas y en ocasiones con alta mortalidad.

La presencia de parásitos en la producción de aves es más frecuente cuando el ciclo biológico es corto y directo como sucede en: *Eimeria* spp., *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinarum*, y *Capillaria* spp. La crianza de aves en forma libre o en el patio trasero es una oportunidad para los parásitos que requieren huésped intermediario y puedan infectar a su huésped. Diversos autores indican que la *Musca doméstica* es el principal vector de los céstodos en aves (Borchert, 1981; Cordero y Rojo, 1999), pero no hay referencia en su participación en el ciclo biológico de otros parásitos encontrados en este estudio como *Heterakis gallinae*, *Ascaridia galli*, *Trichostrongylus* spp., *Amidostomum* spp., lo cual se sugiere que estos insectos intervienen en el ciclo biológico de otros agentes parasitarios, supuesto que hay que comprobar.

Es probable que en las heces que permanecen adheridas en las varillas del piso de la jaula y la humedad ambiental o fugas de agua, pueden favorecer la esporulación de *Eimeria* spp. Para el

desarrollo de la fase infectante de los huevos de *Ascaridia galli*, *Heterakis gallinae*, *Strongyloides avium*, los cuales son ingeridos por la coprofagia que se presenta en las aves de postura en casetas elevadas, supuesto que también debe ser comprobado con un estudio específico de transmisión y epidemiológico que muestre las evidencias respectivas.

Es conocido que la frecuencia de las parasitosis internas en las aves es baja en explotaciones intensivas y más en producción de huevo en jaula elevada, sin embargo, se encontraron varios tipos de helmintos que parece han logrado adecuar el ciclo biológico a las condiciones de las casetas y la presencia de diferentes vectores que están en las heces de las aves, lo cual favorece la infección de las gallinas de postura. Los daños que ocasionan afectan a diferentes niveles la producción de huevo y carne de aves comerciales, por lo cual su presencia debe ser disminuida o evitada por medio de un programa de control específico de bioseguridad en la granja, cuidando la entrada de insectos, aves silvestres o roedores a la granja que puedan propiciar el seguimiento en el ciclo biológico de los parásitos. Otro punto es la eliminación de estos parásitos por medio de la aplicación de compuestos químicos, tomando en cuenta los agentes parasitarios presentes en la explotación y determinando cuál de ellos es el más patógeno para elegir el desparasitante o fármaco específico, que elimine o controle las poblaciones de los parásitos, para tener una producción de huevo óptima permitiendo la rentabilidad de las empresas avícolas.

### **CONCLUSIONES**

Se demuestra la presencia de nemátodos, céstodos y protozoarios gastrointestinales en aves de postura en batería, lo cual no se había reportado en el Sur del Estado de Sonora. Por lo cual es necesario realizar un programa de control específico, para disminuir o evitar los efectos detrimentales en la producción de huevo en la explotación del Sur del estado de Sonora.

### **REFERENCIAS**

- Borchet, A. (1975). Parasitología veterinaria. Editorial ACRIBA, Zaragoza, España.
- Cordero, M. y Rojo, V. (1999). Parasitología veterinaria, Editorial MC GRAW-HILL INTERAMERICANA, Madrid, España.
- Choi, J.H., Namkung, H., Paik, I.K. (2004). Feed consumption pattern of laying hens in relation to time of oviposition. *Asian-Australas. J Anim Sci*, 17: 371-373.
- Blake, D.P. & Tomley, F.M. (2014). Securing poultry production from the ever-present *Eimeria* challenge. *Trends in Parasitology*, 30 (1): 12-19.
- Gordon, F. y Jordan, F. (1985). Enfermedades de las aves, Editorial MANUAL MODERNO S.A. DE C.V., D. F. México.
- Gurbuz, D., Turker, S., Falko, K., Ahmand, I., Hansjor, A. & Gauly, M. (2011). Precision, repeatability and representative ability of faecal egg counts in *Heterakis gallinarum* infected chickens. *Vet. Parasitology*, 183: 87-94.

- Gurbuz, D., Hansjorg, A., Turker, S., Birgit, S. & Gauly, M. (2014). Egg production dynamics and fecundity of *Heterakis gallinarum* residing in different caecal environments of chickens induced by fibre rich. *Vet. Parasitology*, 205 (3-4): 606-618.
- Gutiérrez, L.B.H. (2010). Frecuencia e identificación de céstodos en aves de postura en dos granjas comerciales del Valle del Yaqui, Sonora. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Sonora. Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Hendrix, C. (1999). Diagnóstico parasitológico veterinario, editorial MOSBY, segunda edición. Madrid, España.
- Luna-Olivares, L., Kyvsgaard, N., Rimbaud, E. y Pineda N. (2006). Prevalencia y carga parasitaria de helmintos gastrointestinales en gallinas de traspatio (*Gallus Gallus Domesticus*), en el municipio del El Sauce, departamento de León, Nicaragua. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 7 (11): 1-4.
- Maurer, V., Amsler, Z., Perler, E. & Heckendorn, F. (2009). Poultry litter as a source of gastrointestinal helminth infections. *Veterinary Parasitology*, 151: 265-260.
- Munguía X., J.A. 2014. Manual de prácticas Laboratorio de parasitología. Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON). Talleres gráficos ITSON. México. Pp. 36,55,56,57.
- Pardo C., E. (2000). Helminto fauna de *Vermes gastrointestinales* en *Gallus gallus* familia *domestica*, y como pueden ser controlados con medicamentos botánicos neem (*Azadirachta indica* a. Juss) y el madero negro (*Gliricidia sepium*). Tesis de M.Sc. Universidad Autónoma de Barcelona / Universidad Nacional Agraria.
- Permin, A., Christensen, J.P. & Bisgaard, M. (2006). Consequences of concurrent *Ascaridia galli* and *Escherichia coli* infections in chickens. *Acta Vet Scand*, 47; 43-54.
- Quiroz, R.H. (1984). Parasitología y enfermedades parasitaria de animales domésticos, (Ed.) LIMUSA, México, D.F.
- Ruff, M. (1999). Important parasites in poultry production systems. *Veterinary Parasitology*, 84: 337-347.
- Scheaffer, R.L. y Mendenhall W. (1987). Elementos de muestreo. Editorial Interamericana, México D.F.
- Secretaría de Planeación del Desarrollo y Gasto Público, Gobierno del Estado de Sonora,(2002);[www.sonora.gob.mx/municipios/getmun.asp?municipio=cajeme.htm&nombre=Cajeme](http://www.sonora.gob.mx/municipios/getmun.asp?municipio=cajeme.htm&nombre=Cajeme).
- Soulsby, E.J.L. (1987). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Editorial Interamericana, 7a. Edición, México, D.F.

- Stear, M.J., Doligalska, M. & Donskow-Schmelter, K. (2007). Alternatives to anthelmintics for the control of nematodes in livestock. *Parasitology*, 134:139-151.
- Villanueva, D., Pérez-Rodríguez, L., Gortázar, C., Hofle, U. & Viñuela, J. (2006). Avoiding bias in parasite excretion estimates: the effect of sampling time and type of faeces. *Parasitology*, 133: 251-259.
- Wayne, D.W. (2002). Bioestadística, base para el análisis de la ciencia de la salud. Limusa, Wiley. 4ta. Edición, México, D.F.
- Wongrak, K., Gaulty, M. & Das, G. (2015). Diurnal fluctuations in nematode egg excretion in naturally and in experimentally infected chickens. *Veterinary Parasitology*, 208:195-203.
- Wilson, K.I., Yazwinski, C.A., Toker, T.A. & Johnson, J.B. (1994). A survey into the prevalence of poultry helminths in Northwest Arkansas commercial broiler chickens. *Avian Diseases*, 38 (1): 158-160.

## CAPÍTULO X

### OBSERVACIÓN DE ABOMASOS DE CAPRINOS CON INFECCIÓN NATURAL DE *Haemonchus contortus* DEL MUNICIPIO DE BÁCUM, SONORA

<sup>1</sup>Munguía Xóchihua, J.A.; <sup>2</sup>Plancarte Crespo, A.; <sup>2</sup>Nava Balderas, G.; <sup>1</sup>Flores Rodríguez, L.A.; <sup>1</sup>Reyna Granados, J.R. y <sup>1</sup>Hernández Chávez, J.F.

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología Veterinaria. Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de febrero 818 sur. Cd. Obregón, Sonora. 01(644) 4109000. [javier.munguia@itson.edu.mx](mailto:javier.munguia@itson.edu.mx). <sup>2</sup>Laboratorio de inmunobioquímica de *Taenia solium*. Depto. de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. México, D.F.

**Palabras clave:** Población, semiárido, sexado.

#### RESUMEN

La producción de caprinos en el Estado de Sonora se realiza por lo general en pastoreo favoreciendo la infección por el nemátodo *H. contortus* (Hc), que ocasiona importantes pérdidas económicas. En el Estado de Sonora no hay estudios sobre las características de la infección en caprinos, que aporten conocimientos parasitológicos de *H. contortus* en clima semiárido. Se realizaron visitas al rastro de BÁCUM, Sonora, del 5 de enero al 30 de julio del 2015, en donde se recolectaron 368 abomasos de caprinos infectados en forma natural. El abomaso fue incidido a lo largo de la curvatura mayor y lavado lentamente varias veces. Los parásitos adultos se colectaron en una caja de Petri con un amortiguador de fosfatos (PBS, pH 7.2). Se lavaron a temperatura ambiente y se identificaron con base a sus características morfológicas, se contabilizaron en total y por sexo. Así mismo se realizó la lectura de pH de la zona fúndica y pilórica por medio de tiras reactivas indicador de pH. Se colectaron 368 abomasos de los cuales 212 (58%) fueron positivos y 156 (42%) negativos. Se obtuvo un total de 26,599 parásitos identificados como *H. contortus* de los cuales 17,341 (65%) fueron hembras y 9,258 (35%) machos. El rango en hembras fue de 1 a 658 y en machos de 1 a 529 ejemplares. El pH observado en región fúndica fue de 5 (49.5%) y 6 (46.5%), en la región pilórica pH de 5 (52.2%) y 6 (43.8%). La presencia de Hc es un indicador de que hay zonas ecológicas que albergan en el pasto a larvas tres infectantes del nemátodo abomasal en clima semiárido. Las poblaciones son mayores de hembras que de machos como se ha reportado, lo cual puede ser una respuesta biológica de adaptación y sobrevivencia para que haya más huevos y por ende más larvas tres infectantes (L3) en el ambiente para que continúen el ciclo evolutivo. El abomaso sano tiene un pH 2-3, el cual varía por el tiempo de medición, así como se reporta que la presencia de *H. contortus* aumenta el pH abomasal, que disminuye la digestión de los alimentos y la producción de carne y leche. Se concluye que fue mayor la cantidad de hembras que de machos por abomaso y el pH de abomaso está aumentado. Las poblaciones de *H. contortus* encontrados permiten inferir que es necesario el control químico para disminuir la cantidad de parásitos y mejorar las características productivas de los huéspedes.

## INTRODUCCIÓN

En la parte sur del estado de Sonora predomina el clima semiárido, en donde se realiza la producción de caprinos en forma extensiva con pastoreo diurno y encierro nocturno. En las regiones donde la producción está basada en el pastoreo, por lo general no es común la transmisión de nemátodos gastroentéricos (NGE), pero éstos han logrado adaptarse a estas condiciones climáticas creando áreas endémicas, que afectan a los caprinos compitiendo por los pocos nutrientes que el huésped obtiene de vegetación característica de éste ecosistema (Sykes *et al.*, 1992).

La infección con NGE puede cursar de forma subclínica y crónica en el abomaso, intestino delgado e hígado, los animales reducen su consumo de alimento entre un 15 a 20 %, se pueden presentar casos de anorexia aguda, daño a los tejidos, anemia, toxemia y obstrucción de órganos. En particular en el abomaso se perturba la calidad de las células secretorias, afectando la cantidad y calidad del ácido clorhídrico, lo que conlleva a la modificación en el valor pH hasta 6.5 y se disminuye la eficacia de la digestión (nitrógeno digestible en 25%) y absorción de nutrientes. En algunos casos se puede observar anorexia aguda, anemia, toxemia, daño a los tejidos, y obstrucción de órganos y muerte en animales jóvenes (Symons, 1995 y Simpson, 2000).

El éxito en la rentabilidad de un sistema de producción caprino, se basa en obtener una satisfactoria cosecha de cabrito y producción de leche, lo cual es el reflejo de una adecuada nutrición, fertilidad y prolificidad del hato, sin embargo, fallas en el manejo sanitario ocasionan infestaciones parasitarias en la población animal. Esta situación genera bajos rendimientos y en casos más severos, la pérdida parcial o total de la cosecha por alta mortalidad. *Haemonchus contortus* es un nemátodo abomasal, es un patógeno primario hematófago, capaz de afectar clínica y sub-clínicamente a la población joven y adulta de caprinos y ovinos. Reduce el metabolismo energético de mantenimiento y producción, que ocasiona los casos de anemia que son comunes por la severa pérdida de sangre, mientras que una baja conversión alimenticia y pérdida de peso es observada en animales en producción y con frecuencia alta mortalidad en animales jóvenes, causando importantes pérdidas económicas (Angulo *et al.*, 2010 y Symons, 1995).

El nemátodo *Haemonchus contortus* es frecuente en climas tropicales y subtropicales, pero se ha adaptado a diferentes climas (Simpson, 2000). En el Estado de Sonora, México, a pesar de tener un clima árido y semiárido se encuentran nichos ecológicos capaces de mantener poblaciones de nemátodos gastroentéricos en hatos caprinos de producción en pastoreo. Por su impacto negativo en la producción y rentabilidad de las empresas caprinas, hace necesario realizar estudios sobre las características de la infección natural de *Haemonchus contortus* en caprinos, los cuales se desconocen, de este modo se aportarían conocimientos parasitológicos del nemátodo abomasal en clima semiárido.

Por lo cual el objetivo fue determinar la presencia de *Haemonchus contortus* y de cuantificar y sexar los parásitos presentes y medir el pH abomasal de caprinos infectados en forma natural del municipio de Bácum, Sonora, México.

## METODOLOGÍA

Se realizaron visitas al rastro de BÁCUM, Sonora, México, del 5 de enero al 30 de julio del 2015, en donde se recolectaron 368 abomasos de caprinos infectados en forma natural. Se conservaron a temperatura ambiente para ser trasladados al Laboratorio de Parasitología Veterinaria del Programa Educativo de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias del Instituto Tecnológico de Sonora. El abomaso fue incidido a lo largo de la curvatura mayor y lavado lentamente varias veces. Los parásitos adultos se colectaron en una caja de Petri con un amortiguador de fosfatos (PBS, pH 7.2). Se lavaron a temperatura ambiente y se identificaron con base a sus características morfológicas, se contabilizaron en total y por sexo (Symons, 1985; Angulo *et al.*, 2010). Así mismo se realizó la lectura de pH de la zona fúndica y pilórica por medio de tiras reactivas indicador de pH. Los resultados se muestran en estadística descriptiva.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron un total de 368 abomasos de caprinos de los cuales el 212 (58%) fue positivo y 156 (42%) negativo, se obtuvo un total de 26,599 parásitos identificados como *Haemonchus contortus* de los cuales 17,341 (65%) fueron hembras y 9,258 (35%) machos. El total de los parásitos dieron un peso estimado de 90 gramos. El rango en hembras fue de 1 a 658 y en machos de 1 a 529. El pH observado en región fúndica fue de 5 (49.5%) y 6 (46.5%), en la región pilórica pH de 5 (52.2%) y 6 (43.8%) (tablas 1 y 2).

**Tabla 1. Recolección y lecturas de pH de abomasos de origen caprino.**

Total	Positivos		Negativos	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
368	212	58	156	42
pH	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Fúndica	5	49.5	6	46.5
Pilórica	5	52.2	6	43.8

**Tabla 2. Sexo, número y porcentaje de *H. contortus* localizados en abomasos de origen caprino.**

Periodo	Hembras	%	Machos	%	Total
	Número		Número		
Ene-jul 2015	17,341	65	9,258	35	26,599
<b>Total</b>	<b>17,341</b>	<b>65</b>	<b>9,258</b>	<b>35</b>	<b>26,599</b>

El nemátodo gástrico *Haemonchus contortus* afecta a rumiantes en particular cabras y ovinos, presenta un ciclo directo con una etapa de vida libre preparasitaria, su transmisión depende de las condiciones ambientales. Este parásito se le puede encontrar alrededor del mundo, pero es más

frecuente y patógeno en áreas calientes y húmedas, se considera que la haemoncosis es el factor que delimita la salud y la producción de los pequeños ruminantes en estos climas (Radostits *et al.*, 2000). Por ello la relevancia de los resultados donde se muestra que el nemátodo abomasal está establecido en la región con clima semiárido mostrando la adaptabilidad a diferentes zonas climáticas, por ello es necesario conocer sus características de sobrevivencia, los daños y sus efectos en el huésped.

### **Ciclo de vida de nemátodos gastroentéricos (NGE) *Haemonchus contortus***

El ciclo biológico de los NGE es directo, los animales parasitados excretan una cantidad variable de huevos en sus heces. Una vez en el exterior, si las condiciones son adecuadas, del huevo se desarrollan las larvas de primer estadio (L1), que eclosionan en la masa fecal, mudan dos veces pasando a larvas dos (L2) y a larvas tres (L3) en 5-14 días (la L3 conserva la cutícula de la L2 como protección al ambiente), aunque en condiciones naturales puede alargarse hasta 3-4 meses. Las L3 son las infectantes, es decir son las que ingiere el animal para parasitarse.

Después de que se han desarrollado las larvas infectantes, éstas pueden migrar vertical u horizontalmente en el pasto. La migración vertical les permite subir a las gotas de rocío que se encuentran en la punta, en las mañanas o en los días nublados, la horizontal es el desplazamiento de las heces por la tierra (Cordero y Rojo, 1999).

Tras la ingestión de la L3 en pasto a los 30 minutos aproximadamente, las larvas pierden su vaina en el aparato digestivo del huésped, por efecto de diversos estímulos del hospedador como son: amortiguador bicarbonato-CO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> gaseoso, etc. Este estímulo hace que la larva segregue un fluido de muda que actúa sobre la cutícula provocando su ruptura, con ello la larva, ayudada por sus movimientos, puede salir. Llegando al abomaso las larvas penetran principalmente a la mucosa fúndica, después pilórica, en donde pasan a L4 en el interior de las glándulas o los espacios entre las vellosidades intestinales, después de la última muda se transforman en L5 o preadultos, maduran sexualmente, pasan a adultos, copulan y las hembras empiezan a poner huevos, cerrando el ciclo el cual dura de 21 a 28 días que es el periodo de prepatencia (Mehlhorn *et al.*, 1993; Cordero y Rojo, 1999).

### **Características de sobrevivencia en el ambiente**

Los huevos y larvas de *H. contortus* no resisten la desecación ni las bajas temperaturas, por ello en regiones de veranos calurosos y lluviosos y áreas con inviernos suaves, la presencia de larvas en el pasto tiende a incrementarse a fines de la primavera, alcanzando el máximo en la segunda mitad del verano y decrece durante el invierno. Por lo general, los niveles de supervivencia en el invierno son bajos. Por el contrario, en zonas de inviernos lluviosos, las larvas no resisten el calor y el estiaje de verano, aunque las larvas infestantes poseen una considerable capacidad de supervivencia a ciclos de desecación y rehidratación. Lo cual indica la capacidad de adaptación de este nemátodo a diferentes ecosistemas (Cordero y Rojo 1999).

Un fenómeno de adaptación y sobrevivencia de *Haemonchus contortus* es la hipobiosis, letargo o inhibición larvaria, tiene lugar cuando las condiciones ambientales son adversas como la época de invierno, también se ha reportado durante los periodos de secas, ambos periodos no son adecuados para la formación y sobrevivencia de la L3. En los climas tropicales y subtropicales se ha reportado que este efecto se presenta con mucho menor frecuencia. Se sugiere que la inhibición de *H. contortus*

es una estrategia genética obligatoria de sobrevivencia con posibles estímulos externos (Troell, 2006). Las larvas que penetran al final del verano tienen la capacidad de penetrar a la mucosa de abomaso y ahí permanecer hasta recibir posiblemente estímulos hormonales o estacionales (Troell, 2006). Parece ser que esta condición es heredable por lo que se considera una adaptación del parásito a la resistencia del hospedador, a factores ambientales adversos, o ambos a la vez, también influye la edad del huésped al igual que exposiciones previas (Cordero y Rojo 1999).

#### **Efecto del ambiente en el desarrollo de la larva y sobrevivencia de *Haemonchus contortus***

Las diferencias en los efectos del ambiente en los diferentes estadios de *Haemonchus contortus* son: a) Huevos no embrionados son altamente susceptibles al frío y al desecación, se presenta alta mortalidad debajo de 10°C. b) Huevos embrionados son susceptibles al frío y la desecación, insignificante la eclosión del huevo a una temperatura menor a 10°C., baja eclosión a la ausencia de humedad. c) La larva preinfectante es susceptible al frío y la desecación. d) Larvas infectantes (L3) tienen la mejor supervivencia en clima cálido húmedo, pobre supervivencia en clima fresco y cálido y en inviernos bajo 0°C (O'Connor *et al.*, 2006).

En huevos de *Haemonchus contortus* en ovinos se ha determinado que para el desarrollo de L3 los límites mínimos son 18°C con 50mm de lluvia, las condiciones adecuadas son de 28°C y 70% de humedad, hay mínimo o nulo desarrollo a una temperatura de 9°C, el desarrollo se detiene a 5°C (O'Connor *et al.*, 2006).

#### **Periodos de transmisión de L3 de *Haemonchus contortus***

En condiciones adecuadas de humedad y temperatura puede formar la larva 3 infectante de 4 a 7 días, pero éstas son altamente sensibles a condiciones adversas del ambiente como alta temperatura y de sequía o desecación (Magona y Musisi, 2002), caso contrario la presencia de temperatura, lluvias (humedad) favorecen el desarrollo del huevo y sobrevivencia de la L3. En condiciones tropicales la sobrevivencia de L3 en el pasto es de 3-7 semanas. Se ha encontrado L3 infectantes en época del año húmeda y seca con sobrevivencia de las larvas por ello las reinfecciones en ambas épocas del año (Magona y Musisi, 2002). Lo cual queda confirmado en un estudio donde se encontró que la transmisión por L3 y sobrevivencia de los NGE depende del ambiente en donde la temperatura, lluvias (humedad), así como el tipo de suelo y humedad, cobertura de pasto, son necesarias para la sobrevivencia de la L3 (O'Connor *et al.*, 2006).

En los huéspedes adultos, los *Haemonchus* adultos pueden sobrevivir en la temporada seca, el efecto de hipobiosis de las larvas alarga la sobrevivencia de los adultos, constituyen estas dos estrategias complementarias de la supervivencia de una temporada de lluvias para el próximo periodo de secas. En el caso de los animales jóvenes que nacieron al comienzo de la estación seca no es frecuente que se infecten, lo cual se puede deber a la falta de transmisión en este periodo (Jaquet *et al.*, 1995).

Un estudio encontró que la edad del huésped, áreas de pastoreo, estación del año, y zona agroclimática son factores de riesgo para la infección con helmintos en caprinos, pero solo es significativa la influencia de las áreas de pastoreo, estación del año, y zona agroclimática son factores para el desarrollo de los huevos a L3 en la zona de estudio (Le Jambre, 1995), esto es, la humedad, temperatura y tipo de suelo son importantes para el desarrollo del huevo formación de L3 y la sobrevivencia en el ambiente hasta la infección del huésped.

Es posible que en BÁCUM, Sonora, debido a que el clima no es extremoso puedan sobrevivir algunas larvas en el pasto en el periodo de secas y el invierno, como se ha demostrado en un trabajo en Kenya (Githigia, 2001).

### **Efecto de época del año en la transmisión de *Haemonchus contortus***

En un estudio se encontró que la prevalencia de NGE como *Haemonchus contortus*, *Oesophagostomum columbianum*, *Strongyloides papillosus*, es muy variable y depende de la estación del año, del 30 al 80% de los pequeños rumiantes puede estar infectado durante la temporada de lluvias, en el caso de caprinos y ovinos sus características propias pueden modular la prevalencia (Jaquiet *et al.*, 1995).

Un estudio con ovinos trazadores en una zona semiárida de Kenya se recuperaron de 10 a 500 adultos de *Haemonchus contortus*, en contraste en el periodo seco de Julio a Octubre no se recuperaron parásitos adultos, el conteo de huevos en los ovinos en pastoreo en este periodo fue muy bajo menos de 50 huevos por gramo de heces por animal. En el periodo de lluvias se aumentó la carga de HGH y de adultos en ovinos trazadores y en pastoreo permanente (Wanyangu *et al.*, 1997).

En las épocas del año que hay un aumento de la temperatura con lluvias muestran un aumento drástico de la presencia de nemátodos, en consecuencia hay más huéspedes ovinos y caprinos infectados. Las reinfecciones aumentan la frecuencia de la fecundidad de las hembras y se reporta que la carga o biomasa del nemátodo abomasal tiene una relación directa con la pérdida de sangre del huésped (Tehrani *et al.*, 2012).

La presencia de la enfermedad por lo general es más frecuente en la temporada de verano, con influencia de la respuesta inmunológica y endocrina asociado a la lactancia, lo cual da lugar a una reanudación del desarrollo de las larvas arrestadas en la mucosa de abomaso (Tehrani *et al.*, 2012). En el estudio no se evaluó el efecto de la época del año en la recolección de abomasos, pero el período de estudio muestra que en todos los meses se encontraron abomasos positivos indicando que *Haemonchus contortus* está adaptado a este ecosistema y región climática con presencia todo el año.

### **Efectos patógenos de *Haemonchus contortus* en el huésped**

El mostrar la presencia del nemátodo abomasal *H. contortus* en caprinos es relevante debido a que su presencia inhibe la secreción de jugos gástricos y aumenta las concentraciones en suero de pepsinógeno y gastrina (Simpson, 1997), lo cual afecta el pH 2-3 normal del abomaso. Así mismo se reporta también que inhibe la secreción de ácido por lo cual aumenta el pH abomasal de 5 a 6, lo cual es una adaptación de evolución esencial para colonizar un ambiente ácido hostil para el nemátodo (Angulo, 2010; Simpson, 1997; Simpson, 2000). El efecto del pH sobre *H. contortus* fue evaluado y se encontró que la mayor puesta de huevos está relacionado con la acidez del abomaso, la producción máxima se produce cuando el pH de abomaso fue entre pH 4 y 4.5 (Honde y Bueno, 1982). Lo cual concuerda con el pH observado en el estudio que fue de 5 y 6 en la zonas fúndica y pilórica. Un estudio indica que el aumento registrado de pH fue de 3.5 a 4.5, el cual no es tan severo como se ha reportado (Tehrani *et al.*, 2012). El estar alojado en abomaso en esas condiciones de pH que difiere del normal favorece su presencia dentro del huésped y la continuidad del ciclo biológico.

Los cambios histopatológicos que se presentan en el abomaso por haemoncosis son hemorragias severas en la mucosa y submucosa, degeneración e hipertrofia de las células epiteliales, se presentan cambios en las glándulas gástricas, presencia de células mononucleadas con abundancia de eosinófilos (Tehrani *et al.*, 2012). Así como hiperemia perivascular e infiltración linfocítica, engrosamiento del tejido debido a un aumento de las glándulas mucosas y la secreción, se presenta proliferación de tejido conectivo y necrosis, en abomasos con presencia crónica hay inflamación y cicatrizaciones de las heridas (Tehrani *et al.*, 2012).

La fisiopatología de las infecciones incluye diferentes trastornos del tracto digestivo como la pérdida del apetito, motilidad y de flujo de alteraciones intestinales, aumento del pH gástrico, y disminución de la energía y metabolismo de proteínas (Hoste, 2001). El principal mecanismo patogénico sin embargo, está relacionado con la alimentación hematófaga en las etapas de pre-adultos y adultos sobre la mucosa de abomaso, lo que conduce a la anemia, hipoproteïnemia, edema y la muerte en animales muy infectados (Rahman y Collins, 1990).

La Haemoncosis tiene dos manifestaciones clínicas, la *crónica*, presente en animales adultos con bajas cargas de nemátodos adultos, y la *aguda*, con frecuencia fatal, presente en animales jóvenes sin previo contacto con el parásito. En ambos, la respuesta a una infección o reinfecciones por *Haemonchus contortus* por parte del huésped es la respuesta inmune, la cual muestra sus efectos al haber disminución del tamaño del parásito y postura de huevos aunque no son suficientes para controlar la presencia del nemátodo gástrico y sus efectos negativos (Le Jambre, 1995).

Cuando se establece la infección con *Haemonchus*, estos viven en un entorno con exceso de nutrientes, las hembras pueden poner hasta 5000 huevos por día, por lo cual requieren de mayor aporte metabólico de nutrientes. La cantidad de adultos localizados es importante debido a que la principal acción patógena del parásito es la hematófaga en donde se ha observado que la succión de sangre es por más de 12 minutos por cada parásito, la herida que deja *Haemonchus* en abomaso es similar a una arteria abierta con pérdida de sangre, que continúa sangrando por más de siete minutos. Se estima una media de pérdida de sangre por nemátodo de 0.05 ml, se reporta una relación lineal entre la pérdida de sangre y el número y peso de los nemátodos abomasales (Le Jambre, 1995). Son importantes las poblaciones de NGE las cuales pueden reducir la ganancia diaria de peso del 30% al 50% en los cabritos, y un 20% en la producción de leche y son causa de hasta un 50% de la mortalidad (Torres-Acosta *et al.*, 2012).

En el estudio las cargas parasitarias fueron mayores en hembras que en machos como se ha reportado (Symons, 1985; Simpson, 2000). La producción de huevos de las hembras de *Haemonchus contortus* se estima es 25 veces mayor que la producción de huevos de *Trichostrongylus* y de *Cooperia* (Ueno y Goncalves, 1994). Al haber más hembras habrá mayor eliminación de huevos y formación de L3 en el ambiente para infectar nuevos huéspedes, lo cual puede ser un proceso de adaptación y sobrevivencia, al haber más hembras que eliminan mayor cantidad de huevos al ambiente y por ende más larvas tres infectantes (L3) en el pasto que continúen el ciclo evolutivo.

La cantidad mayor de hembras adultas favorece la presencia del nemátodo en la región y el cuantificar los nemátodos adultos del abomaso permite determinar la biomasa dentro del huésped y relación de sexo de los parásitos adultos puede ser usado para estimar la adaptación de la relación huésped-parásito-ambiente (Angulo *et al.*, 2010).

### **Consideraciones para el control químico de *Haemonchus contortus***

Las infecciones por helmintos son el mayor problema para la producción de ovinos y caprinos en los trópicos, se indica que en estas áreas, arriba del 95% de los animales están infectados con helmintos como *Haemonchus* y *Trichostrongylus*. Se puede presentar una mortalidad del 40% y una pérdida de peso de de 6 a 12 kilos por animal por año (Githigia *et al.*, 2001).

Para el control adecuado de las poblaciones de NGE es necesario determinar los periodos de mayor y menor infección, aplicar el compuesto antihelmíntico adecuado, evaluando su efecto en los parásitos por medio de la carga de huevos por gramo de heces (O'Connor *et al.*, 2006).

Por lo tanto, se recomienda realizar tratamiento antihelmíntico para Haemoncosis en los periodos de estrés nutricional (finales de estación seca) lo cual disminuye los niveles de infección después del periodo de lluvias y con ello mejorar la productividad de hato caprino u ovino (Wanyangu *et al.*, 1997).

Basados en los resultados del estudio, parece indicar que un solo tratamiento de todos los animales en clima cálido semiárido de una zona agro-climática de Kenia, es eficaz contra adultos y larvas hipobióticas de *Haemonchus*, al comienzo del periodo seco podría reducir sustancialmente la contaminación de pastos y reducir significativamente las infecciones durante el inicio de la próxima temporada de lluvias cuando la haemoncosis se presenta en forma clínica por lo general (Wanyangu *et al.*, 1997).

Los tratamientos que se sugieren en las condiciones del estudio son aplicar a todo el ganado inmediatamente después de las lluvias (mayo-junio) y después de las lluvias cortas (enero-febrero) para reducir los efectos de Haemoncosis. Aplicando este programa de control, los casos clínicos que se presenten deben ser evaluados y tratados en forma individual (Wanyangu *et al.*, 1997).

Un estudio mostró que la población de *Haemonchus contortus* disminuyó después de la temporada de lluvias, y que bajó más en la temporada de secas. La L4 en mucosa de abomaso se encontró con más frecuencia en la estación seca. Los nemátodos juveniles se registraron en la temporada pre-lluviosa.

Con respecto a la carga de huevos por gramo de heces obtenida por las temporadas del año, mostró que la época del año tiene gran influencia en la cantidad de HGH, en donde la de lluvias es mucho más favorable, seguido por después de lluvias y por último la época de sequía en donde eliminaban 50 HGH; con respecto a la edad, los animales viejos eliminaban más huevos en heces (Jaquiet *et al.*, 1995).

Es necesario evaluar el impacto económico costo-beneficio de este programa de control sugerido, pero es más racional para el control de Haemoncosis que los programas de desparasitación sistemáticos de cada seis meses o estratégicos de cada 3-4 meses, sin estudios epidemiológicos del comportamiento de las poblaciones de los parásitos durante el año (Wanyangu *et al.*, 1997).

La presencia de *Haemonchus contortus* presiona la relación parásito-nutrición cuando la producción de caprinos se realiza en pastoreo en agostaderos "pobres" compitiendo el huésped y el parásito por

los escasos nutrientes, afectando la producción de caprinos y ovinos. Por ello es importante el demostrar la presencia y población del nemátodo abomasal en zona semiárida del Estado de Sonora. Es muy importante el control químico de los NGE para eficientizar la alimentación escasa que toma del pastoreo y mejore las condiciones nutricionales y productivas, haciendo rentable la producción de pequeños rumiantes.

### CONCLUSIONES

Es mayor la cantidad de hembras que de machos por abomaso y el pH de abomaso esta aumentado. Las poblaciones de *H. contortus* encontrados permiten inferir que el nemátodo está establecido en este ecosistema semiárido. Por lo cual, es necesario el control químico para disminuir la cantidad de parásitos y mejorar las características productivas de los huéspedes.

### REFERENCIAS

- Angulo, C.F.J., García, C.L., Alunda, J.M., Cuquerella, M. & Fuente, C. (2010). Biological characterization and pathogenicity of three *Haemonchus contortus* isolates in primary infections in lambs. *Vet Parasitol*, 171: 99-105.
- Cordero del Campillo, M. y Rojo Vázquez, F.A. (1999). Parasitología veterinaria. Editorial McGraw-Hill. Madrid, España. 241.243.
- Githigia, S.M., Thamsborg, S.M., Munyua, W.K. & Maingi, N. (2001). Impact of gastrointestinal helminths on production in goats in Kenya. *Small Ruminant Research*, 42: 21-29.
- Honde, C. & Bueno, L. (1982). *Haemonchus contortus* egg laying influenced by abomasal pH in lambs. *Experimental Parasitology*, 54 (3): 371-378.
- Hoste, H. (2001). Adaptive physiological processes in the host during gastrointestinal parasitism. *Int. J. Parasitol*, 31: 231-244.
- Jacquiet, P., Colas, F., Cabareff, J., Dia, M.L., Cheikh, D. & Thiam, A. (1995). Dry areas: an example of seasonal evolution of helminth infection of sheep and goats in southern Mauritania. *Veterinary Parasitology*, 56: 137-148.
- LE Jambre, L.F. (1995). Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production in *Haemonchus* infected sheep. *International Journal of Pathology*, 25(3):269-273.
- Magona, J.W. & Musisi, G. (2002). Influence of age, grazing systems, season and agroclimate zone on the prevalence and intensity of gastrointestinal strongylosis in Uganda goats. *Small ruminants Research*, 44: 187-192.
- Mehlhorn, H., Duwel, D. y Raether, W. (1993). Manual de parasitología veterinaria. Editorial Presencia Ltda. Bogotá, Colombia. pág. 170-180.
- O'Connor, L.J., Walkeden, B. S.W. & Khan, L.P. (2006). Review: Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology*, 142: 1-15.

- Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Arundel, J.H. & Himchcliff, K.W. (2000). *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle sheep, pigs, goats and horses*. 9<sup>th</sup> ed. B.W. Saunders, Philadelphia. USA.
- Rahman, W.A. & Collins, G.H. (1990). The establishment and development of *Haemonchus contortus* in goats. *Vet. Parasitol*, 35: 189-193.
- Simpson, H.V., Lawton, D.E.B., Simcok, D.C., Reynolds, G.W. & Pomroy, W.E. (1997). Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. *Int J Parasitol*, 37:825-831.
- Simpson, H.V. (2000). Pathophysiology of abomasal parasitism: Is the host or parasite responsible?. *The Veterinary Journal*. 160: 177-191.
- Sykes, A.R., McFarlane, R.G. & Familton, A.S. (1992). Parasites immunity and anthelmintic resistance. In: Speedy, A.W. (Ed), *Progress in Sheep and Goat Research*. CAB International, Oxford, UK, pp. 179-191.
- Symons, L.E.A. (1995). Anorexia, occurrence, pathophysiology and possible causes in parasitic infections. *Adv Parasitol*, 24:103-133.
- Tehrani, A., Javanbakht, J., Jani, M., Sasani, F., Solati, A., Rajabian, M., Khadivar, F., Akbari, H. & Mohammadian, M. (2012). Histopathological study of *Haemonchus contortus* in Herrik shepp abomasum. *Bacteriol Parasitol*, 3 (5): 1-5.
- Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza de Gives, P., Aguilar-Caballero, A.J. & Cuéllar-Orda, J.A. (2012). Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Veterinary Parasitology*, 189: 89-96.
- Troell, K. (2006). Genotypic and phenotypic characterization of *Haemonchus contortus* in Sweden. Doctoral Thesis. Swich University of Agricultural Sciences. Uppsala. 14-15.
- Uneo, H. y Goncalves, P.C. (1994). *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 3 ed. Japan International Cooperation Agency, Tokyo, 166 pp.
- Wanyangu, S.W., Karimi, S., Mugambi, J.M. & Bain, R.K. (1997). Availability of *Haemonchus contortus* L3 larvae on pasture at Kiboko: a semi-arid warm agro-climate zone in Kenya. *Acta Tropica*, 68: 183-189.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen el apoyo al programa de fomento y apoyo a proyectos de investigación (PROFAPI) del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), por el donativo otorgado para la realización de este trabajo (PROFAPI\_00370 y PROFAPI\_00461).

## CAPÍTULO XI

### RESISTENCIA A TRES COMPUESTOS QUÍMICOS CONTRA NEMÁTODOS GASTROINTESTINALES EN CAPRINOS EN CLIMA SEMIÁRIDO, DEL ESTADO DE SONORA

<sup>1</sup>Verdugo Ávila, B.S.; <sup>1</sup>Munguía Xóchihua, J.A.; <sup>2</sup>Ducoing Watty A.M.; <sup>1</sup>Flores Rodríguez, L.A.;  
<sup>1</sup>Molina Barrios, R.M. y <sup>1</sup>Cedillo Cobián, J.R.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de febrero 818 sur. Cd. Obregón, Sonora. 01(644) 4109000. javier.munguia@itson.edu.mx

<sup>2</sup>Departamento de Genética y Bioestadística. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

**Palabras clave:** nemátodos, resistencia, caprinos.

#### RESUMEN

Los parásitos gastrointestinales afectan en forma constante la producción de caprinos ocasionando pérdidas directas e indirectas a la producción, por lo cual es necesario realizar medidas de control por medio de compuestos químicos, evaluando su eficacia. El objetivo del estudio fue determinar la eficacia de tres compuestos contra nemátodos gastrointestinales en caprinos infestados de forma natural. Para determinar la cantidad a animales requerido para el estudio se muestrearon 41 caprinos, los cuales se seleccionaron al azar grupo A: 10 para ser tratados con Ivermectina, grupo B: 10 con Doramectina, Grupo C: 11 con Levamisol y Grupo D: 10 como grupo control sin tratamiento. Se tomaron muestras después de la aplicación de los compuestos químicos (día 0) se realizaron tomas de muestra de heces los días 0, 4, 7, 14, 21, 28 y 35. A los resultados se realizó estadística gráfica descriptiva y las comparaciones múltiples se realizaron con el método de Tukey. Los resultados muestran una eficacia para la Ivermectina de 87.62%, Doramectina de 77.53%, Levamisol de 77.05%, el grupo control se mostró positivo todo el estudio. El análisis mostró una diferencia estadísticamente significativa entre el logaritmo promedio del grupo control y el logaritmo promedio de los grupos que recibieron Ivermectina y Doramectina ( $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas a través del tiempo, ni interacciones significativas de los tratamientos con las demás variables. Se concluye que en los tres compuestos evaluados, su eficacia está por debajo del porcentaje ideal de reducción de huevos en heces, en la explotación en estudio en el Sur del Estado de Sonora.

#### INTRODUCCIÓN

En la parte sur del Estado de Sonora predomina el clima semiárido, en donde por lo general no es común la transmisión de nemátodos gastrointestinales (NGI), pero éstos han logrado adaptarse a estas condiciones climáticas creando un ecosistema endémico, afectan a los caprinos compitiendo por los pocos nutrientes que el huésped obtiene de vegetación característica de éste ecosistema (Sykes *et al.*, 1992). Por lo anteriormente mencionado, la producción de caprinos está en riesgo constante por

la presencia de NGI que reducen el metabolismo energético para mantenimiento y producción, ocasionando importantes pérdidas económicas (Sykes *et al.*, 1992).

En caprinos y ovinos con infecciones parasitarias por NGI de forma subclínica y crónica en el abomaso, los animales reducen su consumo de alimento entre un 15 a 20 %, se pueden presentar casos de anorexia aguda, daño a los tejidos, anemia, toxemia y obstrucción de órganos. En el abomaso se perturba la calidad de las células secretorias afectando la cantidad y calidad del ácido clorhídrico, lo que conlleva a la modificación en el valor pH hasta 6.5 y se disminuye la eficacia de la digestión (nitrógeno digestible en 25%) y absorción de nutrientes. En algunos casos se puede observar anorexia aguda, anemia, toxemia, daño a los tejidos, y obstrucción de órganos (Symons *et al.*, 1995; Sykes *et al.*, 1992).

El control de las poblaciones de NGI se basa en la combinación de compuestos químicos, manejo del hato, nutrición y control biológico, vacunación y medicina etnoveterinaria (Waller, 1999). Por muchos años el uso de compuestos químicos, uso incorrecto y programas de control inespecíficos ha desarrollado resistencia en parásitos de varias familias de químicos antihelmínticos (Chartier *et al.*, 2001; Leathwick *et al.*, 2001).

En el Estado de Sonora y en caprinos hay pocos estudios sobre la eficacia y presencia de resistencia de los compuestos químicos contra NGI. Por lo cual el objetivo del estudio fue evaluar la eficacia de la Ivermectina (IVER), Doramectina (DORAC) y Levamisol (LEV) en el control de las poblaciones de NGI en caprinos en zona semiárida.

## **METODOLOGÍA**

El estudio se realizó en un hato caprino del ejido denominado Mora Villalobos (campo 29) se localiza en el Municipio de Cajeme, Sonora, México. Presenta un clima semicálido desértico, la temperatura en enero, mes más frío del invierno, fluctúa desde los 6 °C (mínima) y 24 °C (máxima); en julio, mes más cálido del verano, oscila entre los 24 °C y 38 °C. Gran parte de la precipitación pluvial cae durante el verano. Con una media anual de 325 mm (Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México, 2013).

Se utilizaron 41 caprinos infestados con NGI en forma natural, con un rango de edad de uno a cinco años, con fenotipo Nubio, con una carga mínima de 200 huevos por gramo de heces (Wood *et al.*, 1995); los cuales se seleccionaron al azar en grupo A: 10 tratados con Ivermectina 200 µg/Kg subcutáneo, grupo B: 10 con Doramectina 200 µg/Kg subcutáneo, Grupo C: 11 con Levamisol 7.5 µg/Kg intramuscular y Grupo D: 10 como grupo control sin tratamiento (tabla 1). Se utilizaron las dosis recomendadas por el fabricante. Se tomaron muestras de heces después de la aplicación (día 0) y los días 0, 4, 7, 14, 21, 28 y 35. La eficacia de los compuestos se determinó por medio de la reducción de cantidad de huevos por gramo de heces (HGH).

**Tabla 1. Metodología de evaluación de compuestos químicos contra NGI en caprinos.**

Grupo	"n"	Compuesto	Dosis	Vía
A	10	Ivermectina	200 µg/Kg	Subcutáneo
B	10	Doramectina	200 µg/Kg	Subcutáneo
C	11	Levamisol	7.5 µg/Kg	Intramuscular
D	10	Control	0	No aplicación
Toma de muestras días: 0,4,7,14,21,28,35				

La determinación de la presencia de nemátodos gastrointestinales se realizó por medio de la técnica cualitativa de flotación y cuantitativa de McMaster (Munguía, 2014).

Se realizó estadística gráfica descriptiva (Wayne, 2002), se determinó el efecto de intensidad y de extensión (Powers *et al.*, 1982), y realizó la prueba de varianza multivariado para observaciones repetidas en el tiempo (MANOVA), las comparaciones múltiples se realizaron con el método de Tukey (Kuehl, 2001). El análisis de los datos se realizó por medio del paquete JMP 7.0 del SAS Institute.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró una eficacia para la Ivermectina de 87.62%, Doramectina de 77.53%, y Levamisol de 77.05%, el grupo control se mostró positivo durante todo el estudio (tabla 2).

**Tabla 2. Efecto de intensidad y extensión de tres compuestos contra NGI en cabras.**

Compuesto	Día							
<b>Ivermectina</b>	0	4	7	14	<b>21</b>	<b>28</b>	35	42
EI	-148.42	72.46	60.66	73.1	<b>87.62</b>	57.3	50	83.49
EE	0	20	30	30	40	<b>50</b>	30	20
Rango hgh	300-2500	50-350	50-600	100-700	50-200	50-1000	50-400	50-200
<b>Doramectina</b>								
EI	-51.58	62.22	-13.11	64.95	17.14	<b>77.53</b>	9.62	64.22
EE	0	20	30	40	<b>50</b>	<b>50</b>	20	30
Rango hgh	150-2650	150-200	50-1100	50-1500	100-3100	50-400	50-1250	50-550
<b>Levamisol</b>								
EI	-77.89	75.36	<b>77.05</b>	72.17	34.29	55.06	42.31	30.28
EE	0	<b>27.28</b>	<b>27.28</b>	27.28	9.1	18.19	9.1	9.1
Rango hgh	250-2200	50-200	50-150	50-950	50-950	50-450	50-250	50-1200
<b>Control</b>								
Rango hgh	100-900	50-1100	50-900	250-2400	50-2050	50-1350	150-400	100-1000

EI= Efecto de intensidad. EE= Efecto de extensión. Hgh= Huevos por gramo de heces.

El análisis mostró una diferencia estadísticamente significativa entre el logaritmo promedio del grupo control y el logaritmo promedio de los grupos que recibieron Ivermectina y Doramectina ( $p < 0.05$ ). No se encontraron diferencias significativas a través del tiempo, ni interacciones significativas de los tratamientos con las demás variables.

La reducción de HGH después del tratamiento para IVER, DORAC y LEV fue menor al 95% por lo cual se sugiere que hay resistencia para los tres compuestos (Coles *et al.*, 1992).

Se observó que el promedio del logaritmo del número de huevos del grupo control fue superior al promedio de los grupos de Ivermectina y Doramectina. Sin embargo entre los grupos que recibieron los compuestos no se encontraron diferencias significativas. Esto es que los tres tratamientos se comportaron similares, por eso los tres tratamientos tienen la letra **a**, solo el Levamisol fue similar al control en hgh, mientras que Doramectina e Ivermectina fueron diferentes al control. Por ello los dos primeros tienen **a** y control **b** (tabla 3).

**Tabla 3. Las medias de los logaritmos del número de huevos por gramo de heces, por mínimos cuadrados y sus errores estándar.**

Tratamiento	Medias por mínimos cuadrados	Error estándar
Ivermectina	3.2468900a	0.61272233
Doramectina	3.4153615a	0.56786827
Levamisol	4.0099416ab	0.50140682
Control	5.8147685b	0.5801894
Literales diferentes diferencia estadística ( $p < 0.05$ )		

<sup>ab</sup>Literales diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ )

La presencia de huevos de nemátodos gastrointestinales en caprinos en clima semiárido indica la distribución y adaptabilidad que tienen a diferentes ambientes, favoreciendo la infestación y afectan la productividad de los huéspedes (Angulo *et al.*, 2010), se menciona que son importantes las poblaciones de NGI las cuales pueden reducir la ganancia diaria de peso del 30% al 50% en los cabritos, y un 20% en la producción de leche y son causa de hasta un 50% de la mortalidad (Torres-Acosta *et al.*, 2012).

En estudios similares se muestra la eficacia de los compuestos evaluados en caprinos, se utilizó la Ivermectina en el control de nemátodos gastrointestinales en cabras de Burundi a una dosis de 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , la eficacia se evaluó por medio de la reducción de huevos en heces, los resultados mostraron una eficacia mayor al 97%, el efecto residual de la Ivermectina fue mayor de 21 días, mostrando que no hay resistencia en este grupo de animales (Davasto y Cocuzza, 1995).

Se evaluaron los desparasitantes Albendazol, Levamisol e Ivermectina en cabras raza Mubende y Boer en clima semiárido de Uganda, en donde se encontró que en las primeras fue mejor la

Ivermectina con 98%, el Albendazol el menos efectivo con 28.53% y en la raza Boer Levamisol fue más efectivo con 84.44% y menos efectivo el Albendazol con 11%, en la reducción de huevos en heces, lo cual muestra que Ivermectina es más eficaz en la raza Mubende (Byaruhanga y Okwee-Acai, 2013).

También se ha evaluado la eficacia del Fendendazol, Levamisol e Ivermectina en cabras Jamunapari de Jaipur, encontrándose un 23.66%, 63.70% y 98.11% respectivamente; lo que muestra que el Fenbendazol y Levamisol a la dosis de 7.5mg/kg cada uno, no es efectiva contra nemátodos gastroentéricos (Godora *et al.*, 2011). La eficacia reducida del Fenbendazol y Levamisol ha sido reportada por varios autores (Waruiru *et al.*, 2003; Ram *et al.*, 2007). Otro estudio muestra que la eficacia de la Ivermectina fue de 98.11% por lo cual es efectiva para el control de NGE (Gill, 1996 y Ram *et al.*, 2007).

Los valores de eficacia obtenidos para la Ivermectina del 87.62%, Doramectina del 77.53% y Levamisol del 77.05%, en una explotación de caprinos del Sur de Sonora, es sugestivo de la existencia de resistencia a estos antihelmínticos (Coles *et al.*, 1992); esto también concuerda con otros estudios donde se reporta resistencia a estos compuestos en cabras.

Un estudio realizado en Georgia, Estados Unidos, en un hato de Nubia y sus cruza, mostró resultados para el Levamisol 94% de eficacia, Ivermectina 0% y Albendazol de 87%. Otro hato evaluado de cabras españolas arrojó resultados para Levamisol 91%, Ivermectina 78%, Doramectina 76%, Albendazole 76%, Fenbendazole 10%, mostrando que hay resistencia en los hatos evaluados (Terril *et al.*, 2001).

**Tabla 4. Evaluaciones del control químico contra NGI en caprinos.**

Compuesto	Eficacia Porcentaje %			Autor
	Levamisol	Ivermectina	Doramectina	
NE	91	78	76	Terril <i>et al.</i> , 2001
89	82	NE	NE	Torres <i>et al.</i> , 2003
NE	67.3	98.11	NE	Godora <i>et al.</i> , 2011
28.53	84.44	98	NE	Byaruhanga <i>et al.</i> , 2013
NE	77.05	87.62	77.53	Estudio Cabras Bacum
NE= No evaluado				

La **Ivermectina** es un derivado de las lactonas macrocíclicas (LM), en rumiantes está muy extendido su uso, tiene afinidad por acumularse en tejido adiposo, por ello tiene mejor poder residual que otros compuestos químicos. Las LM pueden administrarse por vía oral, subcutáneo y administración tópica, no está bien esclarecido porqué la aplicación subcutánea es más eficaz que la ruta oral y tópica en ovinos, caprinos y bovinos (Lespine *et al.*, 2005).

Estudios en cabras han mostrado que la Ivermectina aplicada en forma subcutánea tiene menor eficacia en la reducción de huevos por gramo de heces (HGH) y conteo de adultos de abomaso, con respecto a la administración oral, similar situación se ha reportado para Doramectina (Alka *et al.*, 2004; Gopal *et al.*, 2001).

Datos parasitológicos muestran que hay similitud en la rutas de administración, se puede suponer que los niveles de Ivermectina de llegada al intestino por vía oral fueron suficientes para asegurar una

óptima eficacia a nivel experimental, pero el fármaco medido dos días después no muestra concentración adecuada como la encontrada unas horas después del tratamiento. El nivel del fármaco por vía oral puede ser muy alta después de la aplicación oral y puede ejercer una eficacia transitoria suficiente para eliminar la población de nemátodos. Esta puede ser una razón por la cual la Ivermectina oral es muy eficaz contra NGI (Waruiru *et al.*, 2003). Sin embargo si hay una reinfección días después de la aplicación oral la concentración de la IVR no va ser suficiente para la eliminación de los nemátodos, los cuales se van a establecer en el huésped con todas sus implicaciones. En contraste, la administración subcutánea por su afinidad al tejido adiposo puede permanecer más tiempo en concentraciones suficientes para eliminar los NGI de una la reinfección, y así tener un periodo más largo de protección duradera (Lespine *et al.*, 2005).

Se han reportado varias situaciones relacionadas con el ayuno, mala condición corporal asociada a una alta carga parasitaria, así como el tipo de alimentación, que pueden afectar la biodisponibilidad del fármaco (Lespine *et al.*, 2004 y Lespine *et al.*, 2005).

La **Doramectina** también es un derivado de las lactonas macrocíclicas el cual tiene un potente efecto contra NGI y artrópodos a dosis baja, está disponible comercialmente desde 1993, se ha formulado con aceites para su aplicación intramuscular, lo cual optimiza su farmacodinamia, también tiene fuerte afinidad por el tejido adiposo, por lo cual su distribución se concentra en forma importante en ese tejido Flajs *et al.*, 2005).

Un estudio mostró una evidente variación entre los animales con el uso de Doramectina en las concentraciones de plasma y leche, estas diferencias pueden ser atribuidos a los niveles de absorción, distribución, metabolismo y eliminación. La variabilidad en la farmacocinética se ha mostrado en varias razas y pueden ser debido a peso corporal, grasa del cuerpo, estado fisiológico, nutrición, condiciones climáticas, entre otros (Flajs *et al.*, 2005). La DORAC puede persistir en el cuerpo durante un largo período, lo cual afecta los tiempos de retiro en leche son largas en relación los tejidos, tiene una excreción media en la leche de ovejas de 1.6 veces mayor en comparación a la Ivermectina y Abamectina (Flajs *et al.*, 2005).

Los resultados encontrados en este estudio de IVER y DORAC fueron menores al 95%, a pesar de su residualidad y efectos mostrados en otros estudios, por lo cual se sugiere que hay presencia de resistencia a estos compuestos en el hato caprino de Bécum.

El **Levamisol** (LEV) es un isómero levógiro activo del Tetramisol, derivado de los imidazotiazoles, se absorbe rápido en el aparato digestivo, tiene un efecto estimulante de la respuesta inmunitaria. Se metaboliza ampliamente en el hígado, se excreta principalmente por la orina como metabolitos y una pequeña proporción por las heces. El LEV actúa en los receptores nicotínicos de acetilcolina y la resistencia que se presenta en este compuesto parece estar asociado con un cambio en sus características y en el número de los receptores que se unen al compuesto químico (Hoekstra *et al.*, 1997).

La resistencia al antihelmíntico LEV se ha reportado en diferentes nemátodos de la familia Strongyloidea en ovinos y caprinos (Sangester y Bjorn, 1995). En México, en el Estado de Veracruz se encontró un hato de bovinos resistente al LEV (Becerra *et al.*, 2014), así como un hato caprino en el Estado de Yucatán, México, se encontró que la población de NGI del hato fue resistente al Levamisol y Albendazol (Torres-Acosta *et al.*, 2003).

La presencia de resistencia en al hato caprino de Yucatán, México, indica que hay dos posibles razones de la presencia de NGE resistentes a las dos familias de compuestos antihelmínticos (CAH): a). Uso inadecuado de dosis por largos períodos de tiempo (varios años) y b). Ausencia de rotación de las familias de CAH. Realizado en largos períodos de tiempo (varios años). Con respecto al uso inadecuado de la dosis, éste ocurrió por muchos años en el rebaño en estudio ya que se utilizaron dosis recomendadas por los fabricantes de cada CAH. Ahora se sabe que las dosis recomendadas por estos fabricantes son inferiores que las requeridas por los caprinos para alcanzar una eficacia óptima (dosis subterapéuticas) (Hoste, 2000; Torres-Acosta *et al.*, 2003). Se han sugerido las dosis adecuadas para los caprinos basándose sus recomendaciones en los escasos estudios de farmacodinamia de antihelmínticos en caprinos (Torres-Acosta *et al.*, 2003). Por lo tanto los Bencimidazoles (BZ) fueron usados en dosis sub-terapéuticas de 5mg/Kg, recomendadas por el fabricante y el LEV de 7.5 mg/Kg, ambos se aplicaron por siete años consecutivos con un promedio de tres aplicaciones por año. La aplicación de dosis subterapéuticas de LEV y BZ en caprinos, es un fenómeno común. Aún en trabajos de prevalencia de NGI resistentes a compuestos químicos se han utilizado dosis más bajas que las recomendadas (Dorny *et al.*, 1994; Torres-Acosta *et al.*, 2003). En muchos casos la resistencia reportada puede estar confundida con baja eficacia debido a que no se alcanzó la dosis terapéutica adecuada. Sin embargo, en este estudio se utilizaron las dosis y vías de aplicación recomendadas que fueron para el Albendazol de 7.6 mg/kg vía *per os* y para el LEV 12 mg/kg por vía subcutánea (Hoste, 2000; Torres-Acosta *et al.*, 2003). Estos resultados muestran que la posible presencia de resistencia de los NGE al LEV en el lote caprino de Bécum, no sucede así debido a que se utilizó una dosis de 7.5mg/Kg, inferior a la recomendada en caprinos (Hoste, 2000; Torres-Acosta *et al.*, 2003), por lo cual en este compuesto es necesario realizar el estudio de nuevo con la dosis indicada para caprinos y poder definir si hay resistencia al compuesto.

### **Causas de resistencia a los fármacos**

La resistencia a los antihelmínticos para los NGI de los pequeños rumiantes se ha reportado en todos los continentes, que incluyen resistencias múltiples en rebaños de cabras, donde se incluye en forma reciente la resistencia a las LM en Estados Unidos (Howell *et al.*, 2008), México (Torres-Acosta *et al.*, 2012). La resistencia reportada para el Levamisol son menos comunes (Chartier *et al.*, 2001).

En la evaluación de los antihelmínticos se deben definir en forma clara la dosis y la ruta de administración debido a que esos dos factores, la forma de administración subcutánea y la subdosificación pueden conducir a una mala interpretación de la evaluación del antihelmíntico cuando se mide la eficacia de los compuestos químicos por medio de la reducción de los huevos en heces (Chartier *et al.*, 2007).

Se debe asesorar a los productores que es necesario preservar la eficacia de las LM y otros compuestos químicos por medio de la disminución de los tratamientos, variando las familias de los antihelmínticos a elegir y aplicar la dosis correcta, así como realizar tratamiento selectivos (Paraoud *et al.*, 2010).

Hay tres grupos de antihelmínticos disponibles para su uso en rumiantes: 1. Bencimidazoles 2. Imidazotiazoles (Levamisol) y Hidropirimidinas (Pirantel y Morantel) 3. Lactonas macrocíclicas (Avermectinas e Mibemicinas) los cuales tienen diferente mecanismo de acción. No hay nuevos antihelmínticos con diferentes mecanismos de acción que vayan a estar disponibles en un futuro

cercano. Por ello es importante mantener los mismos niveles de eficacia de los antihelmínticos disponibles, es esencial tener una población animal con bienestar y una producción que permita la rentabilidad de las empresas (Coles *et al.*, 2006).

Para determinar que un antihelmíntico es eficaz (no resistente) estos deben sobrevivir después de tratamiento el tiempo necesario para vaciar los intestinos que generalmente es de 48 horas. Sin embargo, se debe tener una eliminación o supresión temporal de la producción de huevos: 3 días para Levamisol, 8 días para Bencimidazoles y 14-17 días para Milbemicina. Por lo cual no se deben encontrar huevos en heces después de esos tiempos, los cuales han sido obtenidos con las mejores deducciones. Se debe tener precaución cuando los animales están en praderas o potreros muy infestados donde puede haber re-infecciones continuas. La presencia de huevos viables en el tiempo de tratamiento es indicativo de resistencia (Coles *et al.*, 2006).

Si hay evidencia de un pequeño porcentaje de sobrevivencia puede indicar un problema de resistencia que puede aumentar con la aplicación continua del mismo compuesto y este efecto debe ser controlado (Coles *et al.*, 2006).

En general una reducción superior al 95% en la cantidad de huevos por gramo de heces, indica población susceptible, y se puede seguir utilizando el compuesto (Coles *et al.*, 2006), caso contrario reducciones menores al 95% son indicadores de presencia de resistencia y se debe evaluar la eficacia de los compuestos a aplicar en el hato (Coles *et al.*, 1992 y Coles *et al.*, 2006).

## CONCLUSIONES

Los tres compuestos evaluados están por debajo del porcentaje ideal de reducción de huevos por gramo de heces, por lo cual se sugiere la presencia de resistencia a estos compuestos químicos en la población de caprinos en estudio en el sur del Estado de Sonora.

Se debe considerar reevaluar el uso del Levamisol a dosis indicada en caprinos para determinar si hay NGI resistentes en el lote de estudio.

## REFERENCIAS

- Alka, R.M., Gopal, K.S., Sandhu, K.S. & Sidhu, P.K. (2004). Efficacy of abamectin against ivermectin-resistant strain of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Vet. Parasitol*, 121:277-283.
- Angulo, C.F.J., García, C.L., Alunda, J.M., Cuquerella, M. & Fuente, C. (2010). Biological characterization and pathogenicity of three *Haemonchus contortus* isolates in primary infections in lambs. *Veterinary Parasitology*, 171:99-105.
- Becerra, N.R., Alonso, D.M.A., Fernández, S.A., Quiroz, R.H. (2014). Report of cattle farms with gastrointestinal nematodes resistant to levamisole in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 204: 285-290.

- Byaruhanga, C. & Okwee-Acai, J. (2013). Efficacy of albendazole, levamisole and ivermectin against gastro-intestinal nematodes in natural infected goats at the National Semi-arid Resources Research Institute, Serere, Uganda. *Vet. Parasit*, 195:183-186.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. & Waller, P.J. (1992). World association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the advancement of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol*, 44: 35-44.
- Coles, G.C., Jakson, F., Pomroy, W.E., Prochard, R.K., Samson, H.G.V., Silvestre, A., Taylor, M.A. & Vercruysee, J. (2006). The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 136: 167-185.
- Chartier, C., Soubirac, F., Pors, I., Silvestre, A., Hubert, J., Couquet, C. & Cabaret, J.(2001). Prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematode of a dairy goats under extensive management conditions in southwestern France. *J Helminthol*, 75:325-330.
- Chartier, C., Pors, I., Rehby, L. & Kerboeuf, D. (2007). Anthelmintic resistance survey in French dairy goat nematodes in four main breeding areas. In: Proceedigs of the 21<sup>st</sup> International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 19-23 August, Gent, Belgium, p. 213.
- Davasto, M. & Cocuzza, U. (1995). Efficacy of ivermectin in reducing gastrointestinal nematode fecal egg counts in goats in Burundi. *Preventive Veterinary Medicine*, 23: 173-178.
- Dorny, P., Claerebout, E., Vercruysee, J., Sani, R. & Jalila, A. (1994). Anthelmintics resistance in goats in peninsular Malaysia. *Vet Parasitol*, 55:327-342.
- Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México 2013. En <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/EMM26sonora/municipios/26049a.html>.
- Flajs, V.C., Grabnar, I., Erzen, N.K., Marc, I., Pozgan, U. Gomba, M., Kolar, L. y Pogacnik, M. (2005). Pharmacokinetics of doramectin in lactating dairy sheep and suckling lambs. *Analytica Chimica Acta*, 529: 353-359.
- Gill, B.S. (1996). Anthelmintic resistance in India. *Veterinary Parasitology*, 63:173-176.
- Godora, R., Shama, R.L. & Sodhi, S.S. (2011). Efficacy of fenbendazole, levamisole and ivermectin against gastrointestinal nematodes in Jamunapari goats. *Parasit Dis*, 35 (2): 219-221.
- Gopal, R.M., West, D.M., & Pomroy, W.E. (2001). The difference in efficacy of ivermectin oral, moxidectin oral and moxidectin injectable formulations against an ivermectin-resistant strain of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *N.Z. Vet*, 49: 133-137.
- Hoekstra, R., Borgsteede, F.H.M., Boersema, J.H. & Roos, M.H. (1997). Selection for high levamisole resistance in *Haemonchus contortus* monitored with an egg-hatch assay. *International Journal for Parasitology*, 27 (11): 1395-1400.

- Hoste, H. (2000). Control of gastrointestinal nematodes through anthelmintics in dairy goats. 1er. Curso Internacional: Nuevas perspectivas en el diagnóstico y control de nemátodos gastrointestinales en pequeños rumiantes. Mérida, Yucatán, México. Universidad Autónoma de Yucatán. Pp. 32-37.
- Howell, S.B., Burke, J.M., Miller, J.E., Terrill, T.H., Valencia, E., Williams, M.J., Williamson, L.H., Zajac, A.M. & Kaplan, R.M. (2008). Prevalence of anthelmintics resistance on sheep and goats farms in the southeastern United States. *J Am Vet Assoc*, 233:1913-1919.
- Kuehl, R.O. (2001). Diseño de experimentos. Segunda Edición. Thomson Learning. México.
- Leathwick, D.M., Pomroy, W.E. & Heath, A.C.G. (2001). Anthelmintic resistance in New Zealand. *New Zealand Vet J*, 49:227-235.
- Lespine, A., Alvinerie, M., Sutra, J.F., Pors, I. & Chartier, Ch. (2005). Influence of the route of administration on efficacy and tissue distribution of ivermectin in goat. *Veterinary Parasitology*, 128 (3-4): 251-260.
- Lespine, A., Sutra, J., Alvinerie, M. & Aumont, G. (2004). Influence of parasitism on the pharmacokinetic of moxidectin in lambs. *Parasitol. Res*, 93: 121-123.
- Munguía, X.J.A. (2014). Manual de prácticas Laboratorio de parasitología. Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON). Talleres gráficos ITSON. México. Pp. 36, 55, 56, 57.
- Paraud, C., Pors, I., Rehby, L. & Chartier, Ch. (2010). Absence on ivermectin resistance in a survey on dairy goat nematodes in France. *Parasitol Res*, 106: 1475-1479.
- Powers, K.G., Wood, I.B., Eckart, J., Gibson, T., & Smith, H.J. (1982). World Associations for advancement of veterinary parasitology (W.A.V.P.). Guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in animals. *K*, 10: 265-284.
- Ram, H., Rassol, T.J., Shama, A.K., Meena, H.R. & Singh, S.K. ( 2007). Comparative efficacy of different anthelmintics against fenbendazole resistant nematodes of Pashmina goats. *Vet. Res. Commun*, 31:719-723.
- Sangester, N.C. & Bjorn, H. (1995). Levamisole resistance in *Haemonchus contortus* selected at different stages of infection. *International Journal for Parasitology*, 25 (3): 343-348.
- Sykes, A.R., McFarlane, R.G., Familton, A.S. (1992). Parasites immunity and anthelmintic resistance. In: Speedy, A.W. (Ed), *Progress in Sheep and Goat Research*. CAB International, Oxford, UK. pp. 179-191.
- Symons, L.E.A. (1995). Anorexia, occurrence, pathophysiology and possible causes in parasitic infections. *Adv Parasitol*, 24: 103-133.

- Terril, T.H., Kaplan, R.M., Larsen, M., Samples, O.M., Kaplan, J.E. & Gelaye, S. 2001. Anthelmintic resistance on goat farms in Georgia: efficacy of anthelmintics against gastrointestinal nematodes in two selected goat herds. *Veterinary Parasitology*, 97: 261-268.
- Torres-Acosta, J.F.J., Mendoza de Gives, P., Aguilar-Caballero, A.J. & Cuéllar-Orda, J.A. (2012). Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Veterinary Parasitology*, 189: 89-96.
- Torres-Acosta, J.F.J., Villarroel-Álvarez, M.S., Rodríguez-Arévalo, F., Gutiérrez-Segura, I. y Alonso-Díaz, M.A. (2003). Diagnóstico de nemátodos gastrointestinales resistentes a bencimidazoles e imidazotiazoles en un rebaño caprino de Yucatán, México. *Rev Biomed*, 14: 75-81.
- Waller, P.J. (1999). International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *In J Parasitol*, 29:155-164.
- Waruiru, R.M., Kogi, J.K., Weda, E.H. & Ngoto, J.W. (2003). Multiple anthelmintic resistance on a goat farm in Kenya. *Vet. Parasitol*, 75: 191-197.
- Wayne, D.W. (2002). Bioestadística, base para el análisis de la ciencia de la salud. LIMUSA WILEY. 4ta. Edición, México, D.F.
- Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai, J., Malone, J.B., Pankavich, J.A., Reinecke, R.K., Slocombe, O., Taylor, S.M. & Vercruyssen, J. (1995). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine and caprine). *K*, 58:181-213.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen el apoyo al programa de fomento y apoyo a proyectos de investigación (PROFAPI) del ITSON, por el donativo otorgado para la realización de este trabajo (PROFAPI\_00370 y PROFAPI\_00461).

## **CAPÍTULO XII**

### **EFFECTO DEL QUITOSANO EN LA MICROPROPAGACIÓN DE SÁBILA (*Aloe vera barbadensis*) CULTIVADA EN EL SISTEMA DE BIORREACTOR DE INMERSIÓN TEMPORAL AUTOMATIZADO**

**Tineo García, L.; De La Cruz Cruz, Y.; Gutiérrez Coronado, M.A.; Castro Espinoza, L. y Murillo Verduzco, I.**

Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, Colonia Centro, C.P. 85000, Ciudad Obregón, Sonora, México.

**Palabras clave:** micropropagación, quitosano, biorreactor de inmersión temporal

#### **INTRODUCCIÓN**

La sábila (figura 1) se destaca entre las especies de género *Aloe* por sus más de 200 compuestos activos de interés para la industria farmacéutica, cosmetológica y alimentaria (Sánchez, *et al.*, 2015). La planta de *Aloe vera* apareció por primera vez en la historia en 1500 a.C., siendo llamada planta milagrosa por sus usos variados de gran potencial y sus aplicaciones al cuidado de la salud (Matos, 2011), pertenece a la familia de las liliáceas, originaria del norte y del este de África Oriental y Meridional, y después introducida a América (Natali *et al.*, 1990).



**Figura 1. La planta de sábila (*Aloe vera Barbadensis*).**

Fuente: <https://camposyherrero.wordpress.com/2011/11/10/aloe-barbadensis-miller/>

La propagación de esta planta principalmente es de tipo vegetativa, a través de hijuelos; este método presenta bajos índices de multiplicación a escala industrial y altos riesgos de diseminación de enfermedades fungosas y bacterianas (Ahmed, *et al.*, 2007), por lo que se debe realizar bajo condiciones estrictas de asepsia.

La tecnología del cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales es una de las alternativas tecnológicas más utilizadas para la propagación clonal rápida de diversos cultivos que presentan bajos índices de multiplicación, puesto que se puede lograr la reproducción masiva de plantas sanas de alta calidad, libres de cualquier patógeno, además de multiplicar el cultivo en cualquier época del año (Oliveira, *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2010 y Kumar *et al.*, 2011).

La semi-automatización de los sistemas de propagación *in vitro* de plantas es un paso fundamental para la reducción de los costos de producción bajo este sistema, al respecto el cultivo en medio nutritivo líquido representa una alternativa para la reducción de los costos operativos en la micropropagación de plantas (Pérez-Ponce *et al.*, 1998). Sin embargo, se han reportado efectos negativos como la hiperhidricidad o vitrificación de los tejidos en cultivo o dificultades en la aclimatación de plantas propagadas en medios de cultivos líquidos estáticos (Bhagyalakshmi y Singh, 1995). Por ello se han creado los cultivos de tejidos en sistemas de inmersión temporal, que permiten el empleo de medios de cultivo líquido sin los efectos colaterales antes mencionados. Sobre la base de estos principios, se han construido una serie de aparatos con tales fines.

Los sistemas de inmersión temporal además de solucionar las dificultades de los cultivos estáticos, despliegan la posibilidad de automatizar algunas etapas del cultivo *in vitro*, permiten mayor facilidad de escalado y aumentan los índices de multiplicación, desarrollo y productividad del material propagado (Pérez-Ponce *et al.*, 1998). En función de la necesidad existente de aumentar la multiplicación de sábila a nivel comercial, se plantea explorar nuevas tecnologías que abaraten y estimulen el uso de plantas obtenidas *in vitro* en los campos de cultivo abierto, mediante la reducción de los costos de producción por planta, para lo cual es necesario aumentar los índices de multiplicación y disminuir los costos de los medios de cultivo.

Esta investigación se planteó los siguientes objetivos: optimizar la metodología existente con la aplicación de quitosano como estímulo de crecimiento para la micropropagación de *Aloe vera Barbadensis* en un sistema de inmersión temporal automatizado y evaluar el efecto del tiempo y frecuencia de inmersión en la etapa de multiplicación *In vitro* de sábila.

Las técnicas de micropropagación en el sistema de biorreactores de inmersión temporal constituyen una herramienta innovadora y eficaz que puede ser aplicada en biofábricas de plantas élites para la propagación masiva de plántulas, pues aumenta el coeficiente de multiplicación y la calidad de éstas vía organogénesis o embriogénesis somática, para incrementar los coeficientes de multiplicación en comparación con las formas convencionales de propagación *in vitro* (Robert *et al.*, 2006 y CIRAD, 2003).

En agricultura, el quitosano se ha utilizado como un estimulante del crecimiento debido a que promueve los mecanismos de defensa natural de las plantas contra infecciones causadas por hongos.

La aplicación de la biotecnología vegetal en la agricultura mundial, ha experimentado un avance importante en los últimos veinte años y las técnicas de cultivo de tejidos vegetales han sido un soporte fundamental para estos avances. Los resultados actuales han propiciado que la biotecnología vegetal y sus productos, sean la tecnología de más rápida asimilación por los agricultores y que los beneficios se hayan materializado en millones de hectáreas de cultivos con mejor calidad nutritiva, la propagación masiva de plantas, genotipos élites y la producción de proteínas de interés farmacéutico e industrial en células vegetales.

La rápida asimilación de técnicas biotecnológicas ha mejorado la competitividad tanto de países industrializados como de países en desarrollo (García- González *et al.*, 2010). En este trabajo se abordan los principales resultados de esta investigación para que el lector cuente con los elementos que le permitan evaluar la potencialidad de estas tecnologías.

## **METODOLOGÍA**

El proyecto se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos Vegetales localizado en el edificio LV 700 del Instituto Tecnológico de Sonora, Unidad Obregón, Campus Náinari.

### **Evaluación de los tiempos de inmersión-aireación**

Para la micropropagación mediante el Sistema de Inmersión Temporal, se evaluaron tres diferentes tiempos de inmersión-aireación de los brotes de sábila los cuales se describen a continuación: Tratamiento 1 ( $T_1$ ) : 1 minuto de inmersión cada 6 horas; Tratamiento 2 ( $T_2$ ) : 1 minuto de inmersión cada 8 horas y Tratamiento 3 ( $T_3$ ): 1 min de inmersión cada 10 horas. En cada uno de los contenedores se colocaron cinco brotes de sábila con 5 repeticiones para cada tratamiento y se les agregó 300 ml de medio nutritivo (MS) líquido.

### **Medio de cultivo**

Se utilizó medio líquido para la proliferación de brotes, preparado con las sales de Murashige y Skoog (MS) (Murashige y Skoog, 1962) adicionado con 30 g/l de sacarosa, 100 mg/l de ácido ascórbico, 100 mg/l de mio inositol, 1mg/l de tiamina-HCl, 25 mg/l de L-cisteína, 2 mg/l de citocinina 6-bencilaminopurina BA y 40 ppm de quitosano (Ibarra, 2014). El quitosano se obtuvo por medio de hidrólisis termo alcalina de la quitina y se preparó en solución en ácido acético al 2% (Sánchez *et al.*, 2015).

La siembra se llevó a cabo en la campana de flujo laminar, la cual fue desinfectada y encendida 30 minutos antes de la siembra. Se utilizaron 25 brotes asépticos de sábila para cada tratamiento provenientes de la etapa de establecimiento aséptico, éstos fueron elegidos con características homogéneas de vigorosidad y color. La disección se realizó rápidamente para evitar que el tejido sufriera daños debido a la deshidratación y oxidación así como también para evitar el riesgo de contaminación al momento de trasplantar a los contenedores (Ibarra, 2014). Se realizó la siembra de los brotes en los contenedores del biorreactor según los 3 tratamientos a estudiar los cuales fueron 1 minuto de inmersión cada 6, 8 y 10 horas respectivamente.

Para cada tratamiento de este experimento, se realizaron 5 repeticiones con 5 explantes en cada una de las repeticiones. Una vez colocados los explantes dentro de las cajas, se procedió a verter el medio líquido detallado anteriormente, tomando las precauciones para que este no se contaminara. Se selló cada caja conteniendo los explantes cultivados con plástico "plastipack", posteriormente se colocaron en el biorreactor de inmersión temporal, el cual se programó con los tiempos según los tratamientos (figura 2). Conforme se sembraron los explantes en las cajas fueron identificados con el número del tratamiento y repetición, así como la fecha de siembra.

El total de las unidades experimentales sembradas se mantuvieron en el biorreactor en el cuarto de crecimiento con condiciones controladas de temperatura de  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  y fotoperiodo de 16 horas luz/ 8 oscuridad. La calidad de luz fue dada por lámparas de 40 watts de luz fluorescentes y la intensidad lumínica fue de 1500 luxes.

Se realizaron observaciones durante 4 semanas para evaluar los resultados de las siguientes variables: contaminación, grado de oxidación, número de brotes, longitud de brote (cm), formación de raíz y longitud de raíz (cm) que se midió con el auxilio de una regla graduada desde la base del tallo hasta el ápice la de hoja.

Los datos registrados se analizaron estadísticamente (análisis de varianza SAS completamente al azar y comparación de medias con la prueba al  $\alpha = 0.0001$  de significancia para identificar la diferencia entre los tratamientos, paquete estadístico Excel 2013).



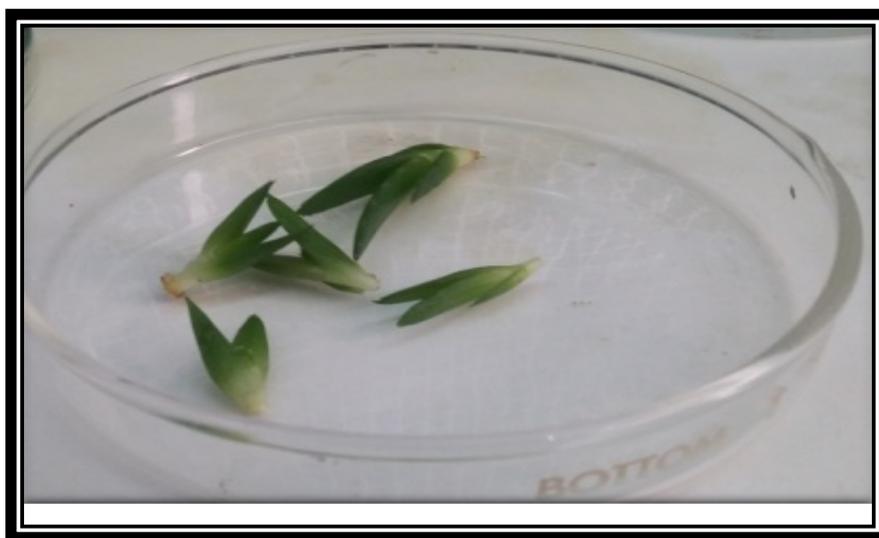
**Figura 2. Biorreactor de inmersión temporal y contenedor para cultivo *in vitro* de plantas.**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados obtenidos se agrupan en diferentes etapas:

### **Etapa de establecimiento aséptico**

Se obtuvieron brotes asépticos y sin oxidación de un promedio de 2.5 cm. de largo, sin raíz, color verde (Figura 3) obtenidos según protocolo de Ibarra (2014), para ser utilizados en la etapa de multiplicación *in vitro* en el biorreactor de inmersión temporal automatizado.



**Figura 3. Brotes asépticos de sábila (*Aloe vera* Barbadensis) obtenidas *in vitro*.**

### **Etapa de multiplicación con quitosano en biorreactor de inmersión temporal**

Los resultados de esta etapa de la investigación según las variables observadas durante 4 semanas: a) contaminación, b) oxidación, c) longitud de brote, d) número de brotes e) formación de raíz y f) longitud de raíz, se presentan a continuación:

a) Contaminación. La siembra de todos los tratamientos se realizó cuidando todos los aspectos de asepsia, sin embargo se presentó contaminación en uno de los contenedores del biorreactor, representando esto un 6.66% del total del experimento (figura 4). La contaminación microbiana es un problema más serio en un cultivo líquido que en un cultivo semi-sólido debido a que al contaminarse una plántula por las bacterias o los hongos se extiende rápidamente a todos los demás por las características propias del sistema que baña a todos los tejidos vegetales, sin embargo también es controlada más fácilmente en biorreactores modulares que en los sistemas más grandes. Esto se debe a que hay un menor número de plantas expuestas a la contaminación, lo que reduce el riesgo, y también porque el diseño modular permite una fácil operación individual y el tratamiento de los

contenedores y la preservación de plantas con pequeñas cantidades de productos químicos antimicrobianos en ppm (partes por millón) (Robert *et al.*, 2006).



**Figura 4. Contaminación fúngica y bacteriana de brotes de sábila en el contenedor del biorreactor de inmersión temporal.**

**b) Oxidación.** Durante todo el experimento no se observó este fenómeno como se puede observar en las figuras 3 y 5.

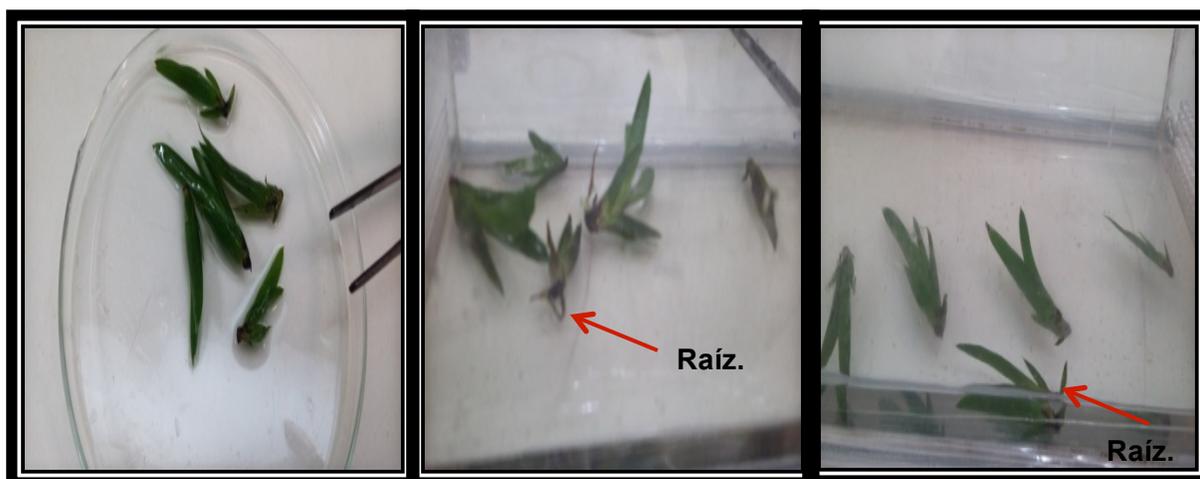
**c) Longitud del brote.** Los resultados obtenidos respectivamente en los 3 tratamientos según los tiempos de estudio fueron los siguientes: en el tratamiento 1 con 1 minuto de inmersión cada 6 horas se obtuvieron brotes de un promedio de 3.99 centímetros de longitud; en el tratamiento 2 con un minuto de inmersión cada 8 horas se obtuvieron brotes de un promedio de 6.68 centímetros y en el tercer tratamiento de un minuto de inmersión cada 10 horas, brotes en promedio de 4.46 centímetros como se resume en la tabla 1; el segundo tratamiento fue el de mejores resultados en cuanto a crecimiento con respecto a los otros dos tratamientos como se observa en la figura 5. Comparando con los resultados obtenidos por Ibarra en 2014, con la misma planta pero en medio semi-sólido con la misma composición química, el medio más adecuado para los explantes es el líquido, ya que absorben de una forma más eficiente los nutrientes que de un medio semi-sólido tradicional, traduciéndose en un crecimiento y desarrollo mejor, con una alta vigorosidad y sin vitrificación o hiperhidricidad (Bhagyalakshmi y Singh, 1995).

Después de 28 días de cultivo se comprobó que la frecuencia de inmersión de 8 horas con 1 minuto de inmersión obtuvo los mejores resultados para las variables longitud de brote y raíz.

Estos resultados demuestran que la aplicación de la inmersión temporal aumenta la longitud de brotes más no el número. El tiempo de inmersión de los tejidos en este sistema afecta la tasa de respiración. La actividad superóxido dismutasa y la peroxidación de lípidos aumenta con la duración de la inmersión, de esta forma se supone que el período de inmersión induce un sustancial estrés oxidativo (Martre *et al.*, 2001).

**Tabla 1. Longitud de brote de sábila (*Aloe vera*) en centímetros por tratamiento, obtenidos en el biorreactor de inmersión temporal.**

No. TRATAMIENTO DE INMERSIÓN	LONGITUD DE BROTE (cm)
1 1 Minuto cada 6 horas	3.97
2 1 Minuto cada 8 horas	6.68
3 1 Minuto cada 10 horas	4.46



Tratamiento 1  
1 minuto de inmersión cada 6 horas.

Tratamiento 2  
1 minuto de inmersión cada 8 horas.

Tratamiento 3  
1 minuto de inmersión cada 10 horas.

**Figura 5. Longitud de brotes de sábila (*Aloe vera*), obtenidos con los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente en el sistema de biorreactor de inmersión temporal a los 28 días de cultivo.**

d) Número de brote. No se presentó multiplicación masiva de brotes con los tratamientos aplicados ya que en este tipo de planta el crecimiento y desarrollo de un brote tiene un periodo más prolongado. Se sugiere que se sigan realizando más pruebas ya que al comparar estos resultados con Pérez (2010), no se ha encontrado otro factor inductor de la multiplicación de brotes en el medio de cultivo.

e) Formación de raíz. Durante el desarrollo del experimento la rizogénesis en el tratamiento 1 fue totalmente nula, en tratamiento 2 la formación y desarrollo de raíces fue en todos los explantes mientras que el tratamiento 3 solo en una caja se registró rizogénesis como se muestra en la figura 5.

f) Longitud de raíz. Durante el desarrollo del experimento, la elongación de las raíces inducidas por el tratamiento 2 se observó en todas las plántulas de entre 0.1 a 0.4 centímetros de longitud, mientras que el tratamiento 3 solo promovió la elongación en una caja registrándose una longitud de 0.1cm en todos los brotes como puede observarse en la figura 5.

## CONCLUSIONES

Se logró mejorar el proceso de crecimiento de brotes de sábila (*Aloe vera barbadensis*) en el biorreactor de inmersión temporal automatizado con un tiempo de inmersión de 1 minuto y con una frecuencia de inmersión cada 8 horas. La calidad del material vegetal obtenido fue elevada lo que permitirá su introducción en la producción en biofábricas.

Se comprobó que los medios líquidos son más eficientes en la micropropagación de la sábila porque ayudan a los explantes absorber con mayor facilidad y en menos tiempo los nutrientes resultando que el crecimiento es mayor y más rápido que en un medio semi sólido.

El quitosano resultó ser un inductor del crecimiento de brotes de sábila en el biorreactor de inmersión temporal, sin embargo se recomienda seguir en estudio a partir de estos resultados.

Con los resultados obtenidos se demuestra la aplicabilidad del biorreactor de inmersión temporal para la multiplicación de la sábila a nivel regional y nacional, que puede satisfacer la demanda comercial con bajos costos de producción y diversificar la agricultura.

Es muy probable que los resultados de este trabajo en cuanto a la multiplicación masiva de brotes aún no sean óptimos y que variando la frecuencia, el tiempo de inmersión y el manejo del explante, sea posible lograr índices de multiplicación más elevados, inclusive utilizando una menor concentración de fitorreguladores, favoreciendo la estabilidad genética y reduciendo el costo por planta.

Se recomienda diseñar cajas de vidrio como contenedores para un uso más práctico.

## REFERENCIAS

Ahmed, S., Kabir, A.H., Ahmed, M.B. & Razvy, M.A. (2007). Development of rapid micropropagation method of *Aloe vera* L.. Department of Medical Microbiology, Manipal University, India ed. Department of Botany, Rajshahi University, Bangladesh: Department of Genetic Engineering and Biotechnology, Rajshahi University, Bangladesh.

Bhagyalakshmi, y N. Singh. (1995). Role of liquid versus agar-gelled media in mass propagation and *ex vitro* survival in bananas. *Plant Cell Tiss Org* 41: 71-73.

- Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD), (1993). Recipiente con Inmersión temporal para cultivo de tejidos de plantas. Las principales ventajas del sistema Rita®. Actualización, 02 febrero 2003. URL: <http://www.cirad.fr/produits/rita/es/interet.htm>.
- García-González, R., Quiroz, K., Carrasco, B. & Caligari, P. (2010). Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges. *Cienc. Inv. Agr.* 37 (3): 5-30. Santiago. *versión On-line* ISSN 0718-1620. [www.rcia.uc.cl](http://www.rcia.uc.cl) en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-16202010000300001&lng=es#.VtZzJeFo18o.email](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-16202010000300001&lng=es#.VtZzJeFo18o.email).
- Ibarra, Von S. R., (2014). Efecto del quitosano en el cultivo *in vitro* de sábila (*aloe barbadensis*), Tesis de Maestría, Instituto Tecnológico de Sonora, ciudad Obregón Sonora.
- Kumar, B.A., Negi, J., Bisht, V. & Bharti, M. (2010). *In vitro* propagation of *Aloe vera*: A Plant with medicinal properties. *Nature and Science*, Arvind Kumar Bhandari, J.S. Negi, V.K. Bisht and M.K. Bharti (Chamoli), Uttarakhand, (India), Pin-246401(arvindbhandari2001@yahoo.co.in), pp. Herbal Research and Development Institute - Mandal, Gopeshwar.
- Kumar, M., Singh, S. & Singh, S. (2011). *In vitro* morphogenesis of a medicinal plant: *Aloe vera* L.. *Pelagia Research Library - Asian Journal of Plant Science and Research*, 2011, 1 (1): 31-40, Volumen Department of Biotechnology, Singhania University, Rajasthan, India, p. Available online at [www.pelagiaresearchlibrary.com](http://www.pelagiaresearchlibrary.com).
- Martre, P., Lacan, D., Just, D. y Teisson, C. (2001). Physiological effects of temporary immersion on *Hevea brasiliensis* callus. *Plant Cell Tiss Org* 67 (1): 25-35.
- Matos, A.A. (2011). Producción de aloína en callos y hojas de brotes de sábila (*Aloe vera* L.) regenerados *in vitro*. *Bioagro*, 1Dpto. de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Apdo. 526. Maracaibo. Venezuela.(e.mail: [amatos@fec.luz.edu.ve](mailto:amatos@fec.luz.edu.ve); [civefecluz@gmail.com](mailto:civefecluz@gmail.com)), pp. 23(2): 79-86. 2011.
- Murashige, T. & Skoog, F.K. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant.*, p. Plant growth medium used in the laboratories for cultivation of plant cell culture.
- Natali, L., Castorena-Sánchez, I. & Cavallini, A. (1990). *In vitro* culture of *Aloe Barbadensis* Mill.: Micropropagation from vegetative meristems. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 20: 71-74, 1990, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, México (Dipartimento di Biologia delle Piante Agrarie, Sezione di Genetica, via Matteotti I/B, 1-56100 Pisa, Italy), p. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Oliveira, E.T., Crocomo, O.J., Farinha, B.T. & Gallo, L.A. (2009). Large-scale micropropagation of *Aloe vera*. *Hort Science*, Depto. de Ciências Biológicas, Laboratório de Biotecnologia Agrícola (CEBTEC), Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz(ESALQ/USP, C.P. 9, 13418-900, Piracicaba, SP, Brazil), p. HORTSCIENCE 44(6):1675-1678.

- Perez, J., Albany, N., Vilchez, J., Leon de Sierralta, S. y Molina, M. (2010). Efecto del medio de cultivo en la multiplicación *in vitro* de *Aloe barbadensis* Mill. Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, Departamento de Rev. Fac. Agron. (LUZ). 27: 447-459.
- Pérez-Ponce, J.N., Jiménez, G.A. y Agramonte, P.D. (1998). Aumento de la Eficiencia en la Micropropagación. p. 179-191. En: Pérez Ponce, J. N (Ed). Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Ediciones GEO: Vol. 1. Instituto de Biotecnología de Plantas (IBP). Santa Clara, Cuba.
- Robert, Manuel L.; Herrera-Herrera, J.L., Herrera-Herrera, G., Herrera-Alamillo, M.A. y Fuentes-Carrillo, P. (2006). Un nuevo sistema de biorreactores de inmersión temporal para micropropagación.
- Sánchez Machado, D.I., López Cervantes, J., Ibarra Von, S.R., Tineo García, L. y Campas, Baypoli, O.N., 2015. Uso potencial del quitosano en la micropropagación *in vitro* de *Aloe barbadensis*. *Revista Latinoamericana de Química* 43. 75.

## ÍNDICE DE AUTORES

	<i>Páginas</i>
<b>A</b>	
Almendariz Tapia, F.J.	88
Angulo Gallegos, O.E.	32
<b>C</b>	
Campas Baypoli, O.N.	22, 32
Canett Romero, R.	42
Cantú Soto, E.U.	32
Castro Espinoza, L.	131
Cedillo Cobián, J.R.	99, 120
Certucha Barragán, M.T.	88
<b>D</b>	
De la Cruz Cruz, Y.	131
de los Santos Villalobos, S.	66
Díaz Tenorio, L.M.	77
Ducoing Watty, A.M.	120
<b>E</b>	
Espinosa Alonso, L.G.	7
<b>F</b>	
Flores Rodríguez, L.A.	99, 110, 120
<b>G</b>	
Gassós Ortega, L.E.	77
Gutiérrez Coronado, M.A.	55, 131
<b>H</b>	
Hernández Chávez, J.F.	110
Hernández Corral, E.A.	77
Hernández Martínez, M.A.	99
<b>I</b>	
Ibarra Villarreal, A.	66
Islas Rubio, A.R.	42
<b>L</b>	
Leyva Santi, J.N.	42
Leyva Soto, L.E.	77
Longoria Sánchez, A.	7
López Cervantes, J.	22, 32
Lugo Enríquez, C.	66
<b>M</b>	
Márquez Castillo, A.	42
Martínez Carrillo, J.L.	55
Martínez Meza, R.G.	88
Medina Godoy, S.	7
Molina Barrios, R.M.	99, 120
Monge Amaya, O.	88
Munguía Xóchihua, J.A.	99, 110, 120
Murillo Verduzco, I.	131
<b>N</b>	

Nava Balderas, G.	110
<b>O</b>	
Ortega Campa, L.	88
<b>P</b>	
Plancarte Crespo, A.	110
Pérez Morales, I.I.	22
Pérez Tello, G.O.	42
<b>R</b>	
Rendón Bojórquez, L.E.	55
Reyna Granados, J.R.	110
Rodríguez Ramírez, R.	22
<b>S</b>	
Sánchez Machado, D.I.	32
Sarabia Meza, M.	22
<b>T</b>	
Terán Valdez, D.P.	88
Tineo García, L.	131
Tirado López, J.E.	77
<b>V</b>	
Valenzuela Aragón, B.	66
Valdez Morales, M.	7
Verdugo Ávila, B.S.	120
Villa Rodríguez, E.	66

“Temas Selectos de Investigación en Biotecnología y Alimentos en el Noroeste de México” es un libro derivado un número selecto de trabajos de investigación en el área y se terminó de editar en 2016 en el Instituto Tecnológico de Sonora, en Ciudad Obregón, Sonora, México.

Su consulta es a través de la página: [www.itson.mx/publicaciones](http://www.itson.mx/publicaciones)



**ITSON**  
Educar para  
Trascender