



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.

AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN MÉXICO I



TOMO III

BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

DECLARACIÓN LEGAL

EDITORES:

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

ISBN GENERAL 978-607-8821-42-6
Fecha de otorgamiento 18-09-2024

Tomo III: Biotecnología y Ciencias Agropecuarias ISBN 978-607-8821-44-0
Fecha de otorgamiento 18-09-2024

El contenido de los artículos es responsabilidad de los autores.

Temacilli EDITORIAL
Lagos de Moreno, Jalisco
<http://temacilli-editorial.com>

D. R. Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.
Loma del Bosque 115, Col. Lomas del Campestre
C. P. 37150 León, Guanajuato
México
Hecho en México



PREFACIO

En este compendio se presentan contribuciones de investigación y desarrollo tecnológico realizadas en diversas áreas de la ciencia, cuyo objetivo principal es contribuir a la difusión del quehacer científico y tecnológico que se realiza en México, así como promover el trabajo interdisciplinario entre miembros de diferentes disciplinas científicas.

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

Octubre de 2024
León, Gto., México

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

TABLA DE CONTENIDO

EFFECTO DEL ELECTROMAGNETISMO EN EL CRECIMIENTO DEL MAÍZ EN HUERTOS URBANOS.....	4
RELACIÓN PROTEÍNAS CON EL USO DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (BPCV) EN PLANTAS DE FRESA BIOFORTIFICADO CON HIERRO EN INVERNADERO	13
CARACTERIZACIÓN DE LA INTERACCIÓN BACTERIAS – PLANTAS EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO.....	24
EFFECTO DEL CLORURO DE CALCIO, ÁCIDO SALICÍLICO Y QUITOSANO SOBRE LA RESISTENCIA AL GORGOJO (<i>ZABROTES SUBFASCIATUS</i>) EN FRIJOL PINTO SALTILLO	32
NEODIMIO EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA CV. STARFIGHTER EN SISTEMA HIDROPONICO	44
HIDROPONÍA.....	50
EFFECTO DEL CERIO EN EL CONTENIDO DE K Y CA EN HOJAS DE TULIPÁN EN FASE DE SENESCENCIA.....	55
INMOVILIZACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI- <i>BRUCELLA SPP.</i> SOBRE SOPORTES DE SILICIO CRISTALINO Y SU CARACTERIZACIÓN POR FT-IR PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UN BIOSENSOR	60
SULFATO EN LA CONCENTRACIÓN Y CONTENIDO DE HIERRO, COBRE Y ZINC EN COL	66
“USO DE SOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS NATURALES COMO ALTERNATIVA A SOLVENTES CONVENCIONALES PARA EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE HOJAS DE NEEM (<i>AZADIRACHTA INDICA</i>)”	71
EFFECTO DE LAS ETAPAS DE GERMINACIÓN SOBRE EL COLOR DE LAS SEMILLAS DE LENTEJA VERDE (<i>LENS CULINARIS M.</i>)	78
IMPACTO DE LA TOXICIDAD DEL 2,4-DINITROFENOL SOBRE LA MICROALGA <i>CHLORELLA VULGARIS</i> : EVALUACIÓN DE LA SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO	83
REMOCIÓN DE PARACETAMOL EN AGUAS RESIDUALES CON <i>EPIPREMNUM AUREUM</i> (TELÉFONO).....	91
BIORREMEDIACIÓN A PARTIR DEL USO DEL COMPOSTAJE.....	102
CARACTERIZACIÓN DE UN POTENCIADOR DE SABOR DEL HONGO COMESTIBLE SHIITAKE (<i>LENTINULA EDODES</i>)	111
EFFECTOS DEL ZINC EN LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DE NITRÓGENO, FÓSFORO Y POTASIO EN LECHUGA	119
CRECIMIENTO DE PROTOZOARIOS CILIADOS DE VIDA LIBRE EN MEDIO TRIGO	124
EL CRECIMIENTO INICIAL DE CAÑA DE AZÚCAR (<i>SACCHARUM SPP.</i>) ES INFLUENCIADO POR VANADIO.....	128
<i>CLAVISPORA LUSITANEA</i> COMO ALTERNATIVA SOSTENIBLE EN LA REDUCCIÓN DE AGROQUÍMICOS Y EL ESTÍMULO COMO PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL	132
EL CINE COMO RECURSO DIDÁCTICO EN EL APRENDIZAJE DE LA BIOÉTICA EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA.....	137
ANÁLISIS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN MICELIO DE <i>HERICIAM ERINACEUS</i> Y <i>CORDYCEPS MILITARIS</i> CULTIVADO EN CONDICIONES CONTROLADAS DE ILUMINACIÓN LED.....	142
PRODUCCIÓN DE RÁBANO (<i>RAPHANUS SATIVUS L.</i>) CON HUMUS DE LOMBRIZ	146

FORMULACIÓN DE ALIMENTOS FUNCIONALES ELABORADOS CON HARINA DE BAGAZO DE VINO TINTO	151
EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO (<i>E. GLOBULUS</i>) COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE ANTRACNOSIS	157
HARINA DE GUAYABA A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE DULCES	164
EVALUACIÓN DE DIFERENTES PARÁMETROS DURANTE EL DESEMPEÑO DE UN BIODIGESTOR DE GEOMEMBRANA TUBULAR ALIMENTADO CON ESTIÉRCOL VACUNO ..	169
DISEÑO DE UN PROTOTIPO PARA TRATAMIENTO DE AGUAS PLUVIALES Y DOMÉSTICAS	180
DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE AGRADO DE LOS ATRIBUTOS DE LA HARINA DE LENTEJA (<i>LENS CULINARIS</i> M.) VERDE Y ROJA	186
TOLERANCIA DE HUAUZONTLE (<i>CHENOPODIUM BERLANDIERI</i> SPP. <i>NUTTALLIAE</i>) A LA SALINIDAD DURANTE LAS ETAPAS DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO INICIAL	192
LITIO AFECTA LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DE BORO EN CHILE (<i>CAPSICUM ANNUUM</i> L.) CV. GUAJILLO	196
EFFECTO DE LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i> SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS PROTEÍNAS DE CHICATANAS (<i>ATTA MEXICANA</i>)	201
USO DE NANOPARTICULAS DE ORO EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) A PARTIR DE MUESTRAS CERVICALES	210
ABSORCIÓN Y USO DEL NITRATO EN COL BAJO ESTRÉS SALINO Y DISTINTOS NIVELES DE AZUFRE EN LA SOLUCIÓN NUTRITIVA.....	216
IMPORTANCIA DEL PH EN SUELOS DESTINADOS A USO AGRÍCOLA	221
CARACTERIZACIÓN ZONAL DE LA PIEL DE HÁMSTER ADULTO MACHO Y HEMBRA CON FINES DE DERIVA CELULAR.....	226
MÉTODO BIOINTENSIVO DE ALIMENTOS: UNA ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE.....	234
ANÁLISIS COMPARATIVO DE HARINAS OBTENIDAS DE GUAYABA.....	240
ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INHIBICIÓN DEL HONGO <i>FUSARIUM</i> SP. MEDIANTE TERAPIA FOTODINÁMICA CON ROSA DE BENGALA Y AZUL DE METILENO.....	245
EFICACIA DE LA LUZ UV PARA LA INACTIVACIÓN MICROBIANA EN UN PROTOTIPO DEJUGO DE CAÑA DE AZÚCAR CON JENGIBRE Y SU CALIDAD NUTRICIONAL.....	254
BIOPLÁSTICO FÚNGICO: UNA ALTERNATIVA ECOLÓGICA AL CUERO CONVENCIONAL ...	266
CONTENIDO PROTEICO EN HARINA DE LENTEJA VERDE (<i>LENS CULINARIS</i> M.) EXTRUÍDA	281
“EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DIFERENTES EXTRACTOS NATURALES CON MICROORGANISMOS PATOGENOS DE TILAPIA (<i>OREOCHROMIS SP</i>) CULTIVADA EN EL LAGO DE LA UPTX”	287
FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE UN HONGO FITOPATÓGENO DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA.....	298
QUITOSANO EN CONCENTRACIÓN FOLIAR DE CLOROFILAS EN PLANTAS DE FRESA SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO	307
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FENÓLICOS DE HOJAS DE KALE (<i>BRASSICA OLERACEA</i> VAR. <i>SABELLICA</i>) DURANTE LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i> ...	312
EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZIRCONIA EN EL PROCESO OSTEOGÉNICO.....	322

EFFECTO DEL CONSUMO DE ANTIOXIDANTES SOBRE LOS OVOCITOS DE HEMBRAS HÁMSTER SIRIO DORADO	332
INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE INSUMOS ORGÁNICOS SOBRE EL RENDIMIENTO EN EL CULTIVO DE BRÓCOLI (<i>BRASSICA OLERACEA ITÁLICA</i>)	341
IMPACTO DE UN EFLUENTE ANAERÓBICO Y DE UN CONSORCIO BACTERIANO EN LA PRODUCCIÓN ACELERADA DE LOMBRICOMPOSTA	347
EVALUACIÓN ANTIFÚNGICA Y ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FENÓLICOS DE TALLO DE AJO (<i>ALLIUM SATIVUM</i>) CONTRA <i>COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES</i>	359
APLICACIÓN DE CERIO (CE) FOLIAR EN TOMATE (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> L.) CV. CID F1	371
OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA DE KOMBUCHA: IMPACTO DE LA FUENTE DE CARBONO, TEMPERATURA E INÓCULO.....	376
EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE TALLO DE AJO (<i>ALLIUM SATIVUM</i>) COMO POSIBLE INHIBIDOR EN ENSAYOS IN VITRO CONTRA <i>TRICHOPHYTON INTERDIGITALE</i> ASOCIADO A DERMATOFITOSIS HUMANA.....	381
GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO SEMILLAS FORESTALES CON EL USO DE OG Y OGN.....	395
ECUACIÓN ALOMÉTRICA PARA ESTIMAR BIOMASA ÁREA FORESTAL EN FRESNOS DEL SUELO URBANO DE LA CIUDAD DE MÉXICO	401
EFFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE Fe_3O_4 EN EL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM) DE CELULOSA	407
ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD DE UNA LÍNEA DE PRODUCCIÓN PARA ELABORACIÓN DE HARINA A BASE DE LOS RESIDUOS DEL TALLO DEL BROCOLÍ.....	413
ENRIQUECIMIENTO DEL ENSILADO DE AGAVE CON HOJA Y VAINA DE MEZQUITE COMO ALTERNATIVA EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL.....	417

EFFECTO DEL ELECTROMAGNETISMO EN EL CRECIMIENTO DEL MAÍZ EN HUERTOS URBANOS

Paulino Cabral Gurrola¹, Trejo Córdova Alfredo², Vazquez Avendaño Roberto²,
Ambríz García Demetrio Alonso²,

¹Huerto Comunitario Constitución de 1917. Alcaldía Iztapalapa CDMX.

²Laboratorio de Reproducción Animal. Asistida, Departamento de Biología de la Reproducción,
UAM-Iztapalapa.
deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

Los huertos urbanos son una moda en todo el mundo, especialmente en las grandes ciudades. Sus beneficios se centran en la formación de comunidades aliadas y solidarias, la vinculación con la naturaleza y la generación de alimentos e insumos dentro de una importante terapia de ocupación que alivia malestares. En las ciudades, el cultivo de vegetales tiene problemáticas específicas, por ejemplo la calidad y cantidad de los recursos suelo, agua y semilla. Otros problemas importantes son las partículas suspendidas cargadas de microorganismos así como de metales pesados, gases nocivos e incluso el electromagnetismo, el cual ha sido utilizado para estimular el crecimiento del maíz. Algunos huertos incluso han sido instalados en camellones, debajo de torres de cableado de alta tensión. Con la finalidad de saber el efecto del electromagnetismo en el crecimiento del maíz en huertos urbanos es que se realizó el presente trabajo. Se sembró semilla nativa de maíz en un terreno de temporal (MT) en Ayapango, Estado de México y en el huerto urbano Constitución de 1917 (HC) en la alcaldía de Iztapalapa, se siguieron labores culturales estándar de manera similar en ambos sitios. A los 5 meses fueron evaluadas 25 plantas en cada lugar midiendo el largo total, raíz y espiga. Así como diámetro en la zona basal media y alta del tallo. Se pesaron y contabilizó la fructificación. Se encontró que el maíz en el HC fructificó en un 10% en tanto que en MT fue del 100%. El peso de las plantas fue de 1.91 ± 0.49 kg vs 0.9 ± 0.34 kg ($p > 0.05$) respectivamente. La altura fue de 2.54 ± 0.34 m vs 3.41 ± 0.39 m ($p > 0.05$) respectivamente. Se concluye que en las condiciones del presente estudio el electromagnetismo ocasionó el mayor crecimiento de la planta del maíz pero no fomentó su fructificación.

INTRODUCCIÓN

Ante la crisis ambiental que enfrentamos en todo el mundo, hay una necesidad urgente de hacer cambios radicales con nuestra manera de ver y habitar en el planeta, es decir, revalorar nuestro origen ahora centrado en la naturaleza. De alguna manera como especie, el ser humano ha considerado por diversas razones, especialmente en el mundo occidental, que es el primero en la escala zoológica y el culmen de toda la evolución, con ello, merecedor de la primacía en toda la naturaleza, considerando tanto el ambiente biótico como abiótico existente. Todas ellas falacias de la razón central del antropocentrismo, por lo cual, el ser humano disponemos ampliamente de todo lo existente, justificando que nuestro raciocinio es mucho más profundo y equilibrado que las propias leyes naturales. El resultado de ello es que en poco tiempo de existir el *homo sapiens* (un poco más de 100,000 años vs 3.5 mil millones de años de la vida en la tierra) y en especial, en muy poco tiempo del desarrollo tecnológico (hace unos 10,000 años), hemos sobrepasado límites en la utilización de los recursos naturales, hemos roto delicados equilibrios de los ecosistemas, de manera tal que hoy en día, la situación ambiental es muy compleja para la sobre vivencia de las demás especies vegetales y animales e incluso, sin ser conscientes de ello, para la sobrevivencia de ¡nuestra propia especie!, considerando que si bien tenemos un avanzado nivel de intelecto, no así tenemos las condiciones biológicas corporales mínimas necesarias para permanecer ante una catástrofe ambiental, para lo cual muchas otras especies elementales de la naturaleza, sí están en esa posibilidad adaptativa emergente, por ejemplo los insectos (Bergoglio, 2015).

Casos de éxito

En tanto, muchas personas conscientes de esta situación, han buscado compartir y contagiar su consciencia a través de diferentes acciones e incluso con resultados muy destacados, que por ser

aun modestos, no se denotan fácilmente en la sociedad. Un ejemplo preciso de ello es lo reportado en el libro intitolado: “Patrimonio natural de México. Cien casos de éxito”, publicado en el año 2010, por el Dr José Sarukhán Kermez, la Dra Julia Caravias y el Dr Javier de la Maza, donde cada uno de los 100 casos referidos y documentados, es un esfuerzo enorme en lo individual, en lo colectivo, ya sea por instituciones o la sociedad civil, relacionado con la conservación de especies animales, vegetales y ecosistemas, con resultados extraordinarios. Demostrando que, en caso de así requerirlo, es posible revertir esta compleja situación que hoy enfrentamos y que además es del conocimiento común de la sociedad, pero que desafortunadamente, por su poca difusión trae desesperanza, especialmente entre los jóvenes (Sarukhán et al, 2010).

En una conferencia reciente en la UAM Iztapalapa, (2024) el Dr Sarukhán antes de comenzar, tomó el micrófono y preguntó en el platórico auditorio: ¿Quién de los presentes se reconoce como un animal? Hubo un silencio prolongado. De unas 200 personas, apenas unos 6, fuimos los que respondimos positivamente. Acto seguido el Dr Sarukhán comentó que si no partimos de ser conscientes que somos una especie biológica más de las múltiples (millones) que existen en la naturaleza y que como todas ellas interactuamos desde un nicho particular en entramados ecosistemas, será entonces complejo tratar de ubicar las estrategias y acciones para salvaguardar el planeta. El principio de todo esto es: reconocerse como un animal.

El cuidado de la casa común

Por otro lado en la encíclica intitulada “Sobre el cuidado de la casa común” del Papa Francisco, hace referencia a muchos problemas ambientales que sofocan hoy día al mundo. Describe de manera precisa a la importante contaminación de los cuatro elementos formativos. Agua contaminada, Tierra con desechos tóxicos, Fuego que abraza millones de hectáreas de bosques y aumentan el calentamiento global y finalmente, el Aire, que cargando muchos contaminantes y partículas suspendidas es un peligro latente en variados sitios focales y que en este año ha mantenido una “normalización” en los “dobles no circula” que implica el descanso escalonado de automóviles, incluso de modelos actuales (2024), ante el cúmulo de contaminantes que ponen en riesgo la salud de todos los organismos que dependemos de una buena calidad de aire para sobrevivir. En esta misma encíclica el Papa Francisco precisa que esta contaminación está de la mano con los programas económicos de las naciones, es decir la condición es inherente a los modelos económicos mundiales, donde lamentablemente es bien sabido que los países más desarrollados son los que generan la mayor cantidad de contaminantes, por lo que hace un llamado, urgente, a la concientización, a la sensatez y a la ética como líneas de acción, sobre las cuales descansar los mecanismos emergentes para la bio remediación mundial. Cabe mencionar que a pesar de ser una encíclica, con autoría de un Papa de la jerarquía católica, cuenta con un nutrido grupo de colaboradores expertos ambientalistas y no incluye aspectos de adoctrinamiento. Hemos dado a leer esta encíclica a muchos alumnos que, resistiéndose por lo que recién acabamos de mencionar, terminan afirmando que es un libro magnifico, y fuera de la religión (Bergoglio, 2015).

Huertos urbanos

Por otro lado , comentar que el ser humano lleva consigo y a donde se movilice su cultura, considerada ésta como un enorme cúmulo de conocimientos en diversas áreas de la vida. Resulta particular esto en tiempos de gran migración en el mundo globalizado y donde países en pobreza extrema, impulsan y expulsan, a sus ciudadanos a la aventura de la sobre vivencia. Con esa cultura que también han tenido los pueblos originarios y migrantes a las ciudades en nuestro país, se han establecido especialmente en la periferia de los núcleos urbanos, donde las condiciones lo permitan. Ahí algunas de las actividades desarrolladas han sido las vinculadas con los cultivos y crianza de animales. Las ciudades, conforme avanzan en su modernidad, van transformando sus condiciones de bienes y servicios y alejando de sus núcleos urbanos a la producción de alimentos animales y vegetales. El costo del recurso tierra, y la disponibilidad de agua, e insumos varios, hace que las ciudades cambien de vocación de producción agropecuaria a industrial. Sin embargo se ha visto a través de los años que la vinculación con la producción, en especial la vegetal, es de suma importancia, llamado a dicho movimiento contemporáneo “Huertos urbanos o periurbanos”, donde la necesidad de producción de alimentos, sea cercana a los núcleos de consumo, con lo que se cierra

un círculo económico (circular) de importancia, obteniendo recursos los productores, así como insumos los consumidores.

Los huertos urbanos también han provisto de otros grandes beneficios, por ejemplo otorgar la capacidad de ingresos económicos, además brindan terapia de ocupación, mantienen vinculación con la naturaleza. Los huertos también han mostrado, en fechas recientes, ser importantes para la reconstrucción del tejido social, puesto que requiere de interacción entre vecinos activos de las comunidades, tendiendo lazos que fortalecen la unión. Además, proveen de cuidadores de áreas verdes que amortiguan, desde el corazón de las ciudades, el calentamiento de las mismas, proveyendo a los ciudadanos aspectos de mejora en el paisaje urbano, así como impactar positivamente en los recuerdos del campo, del trabajo en él y de los productos que nos ofrece. Al menos en Ciudad de México (Megalópolis), la mayor parte de los habitantes tiene origen o algún vínculo cercano con el campo y con la producción agropecuaria (Figura 1).



Fig 1. El primer autor cuidando del huerto Constitución de 1917.

Riesgos de los huertos

Los huertos urbanos hoy son una importante moda en el mundo. Pero, y he aquí el pero: dadas las condiciones que imperan en una gran ciudad relacionadas con la calidad de sus elementos (agua, tierra y aire), la producción de plantas ornamentales es adecuada, al cabo que solo las vemos, pero cuando el objetivo es un huerto para el consumo de plantas, en aspectos variados, como son plantas condimenticias, medicinales y nutricionales, la situación puede verse problematizada. Por ejemplo, el agua potable es muy limitada en la ciudad y existe oficialmente (SACMEX) la prohibición para su uso en los huertos, razón por la cual debe de ser preferentemente aprovechada el agua pluvial de temporal o acaso utilizar para riego el agua tratada. A este respecto comentar que las plantas tratadoras de aguas residuales, existentes en la ciudad (alcaldía Iztapalapa en específico) no tienen el sistema de producción de agua tratada para uso agrícola, es decir, solo le denominan agua tratada que si está autorizada para uso en jardines y parques donde existen plantas ornamentales, pero con respecto a riego para plantas de consumo, esto puede ser de riesgo a la salud humana sobre todo

en el tema de huevecillos de parásitos. Por otro lado en la zona norte de la ciudad, dada la intensa actividad industrial, es importante las partículas suspendidas así como la presencia de metales pesados, los cuales pueden ser de riesgo para la salud, más aún en la producción de alimentos en estas áreas (Chacalo et al., 2017) (Figura 2).



Fig 2. Los huertos en el medio urbano tienen algunos riesgos de consideración.

Electromagnetismo y su efecto en agricultura.

Por otro lado, otro tema de interés, es con respecto al cableado eléctrico de alta tensión, el cual recorre toda la ciudad, formando importantes campos electromagnéticos. Dado que los cables son soportados por grandes torres, éstas se instalaron en terrenos federales, a partir de los cuales se deslindó los terrenos para otros usos habitacional, comercial, movilidad, funcional y recreativos. Con el paso de los años, las torres siguen ahí presentes, pero aun aumentado considerablemente las zonas construidas, lo que contribuye a que haya campos electromagnéticos bajo las torres de importancia, especialmente, porque en algunos casos, los terrenos donde se ubican las torres, es donde se han instalado recientemente huertos urbanos comunitarios

La corriente eléctrica, definida como un flujo constante de electrones a través de un conductor, puede verse alterada por la cercanía de un campo magnético, es decir por polos con carga (Montuy, 2019) Este efecto puede estar presente en diferentes dispositivos, especialmente en las ciudades donde confluyen numerosas ondas, corrientes y efectos eléctricos y magnéticos, así como ondas y microondas generadas por otros dispositivos (Carbonell et al., 2017). Los seres biológicos (plantas y animales) pueden ser sensibles a alguna de éstas. En el caso del electromagnetismo se ha encontrado que puede afectar el índice de crecimiento y absorción radical de algunas plantas, siendo una de las más sensibles el maíz (Armesto et al., 2015). En tanto que otras parecen no afectarles. En países de centro y Sudamérica se ha ampliado el uso de la exposición a un campo electromagnético a la semilla del maíz con lo cual se tiene una sensible mayor producción de forrajes, luego de su siembra y cultivo. Cabe mencionar que esta actividad electromagnética originada por los cables de alta tensión en las ciudades y en sus cercanías, no ha tenido al momento algún efecto deletéreo descrito en la salud de las personas y animales (Montuy, 2019).

Huertos por apropiación en Iztapalapa

El fechas recientes (hace un par de años), la alcaldía en Iztapalapa impulsó la creación de numerosos huertos urbanos, en terrenos disponibles (varios de ellos, debajo del cableado, ya mencionado), bajo el modelo de huertos por apropiación. Dentro de este modelo se pidió colaboración a la planta de compostaje del Bordo Poniente en el Estado de México, para la obtención de composta, la cual era depositada en el terreno seleccionado en forma de camellones (camas elevadas bio intensivas) posteriormente se colocaban plantas (preferentemente, acelga, apio, chile serrano, jitomate cherry, lavanda, hierbabuena, romero y vaporub). Los huertos fueron atendidos durante unos pocos días después de ser instalados, tratando de despertar curiosidad en el vecindario, a quien dicho sea de paso, no se le informó de este modelo, ni de la presencia del huerto. En unos días más el personal de la alcaldía se retiró, dejando a su suerte al huerto, con la firme esperanza que la sociedad civil se organizara para el cuidado del mismo, así como para el trabajo de mantenimiento, producción y aprovechamiento. Muchos de los huertos sucumbieron, en tanto que otros permanecen con formas variadas de organización y participación civil y con una discreta mirada de las unidades territoriales que son pequeñas oficinas de acción de la alcaldía.

En el huerto por apropiación de la Colonia Constitución de 1917, de la Unidad Territorial de Santa María Aztahuacán de la alcaldía de Iztapalapa, un ciudadano (Sr Paulino Cabral) se comprometió con el rescate y mantenimiento del huerto, aprovechando su conocimiento original en la agricultura en su natal Fresnillo, Zacatecas y aprovechando que tenía poco tiempo de haberse jubilado de una empresa fabricante de muebles. El huerto mide 200 m² y en él podemos encontrar la producción de más de 40 plantas, comestibles, condimenticias, medicinales y ornamentales, que proveen producto a la comunidad, bajo un esquema particular definido en el huerto por el Sr Paulino. Sin embargo se le ha dado un lugar importante en el huerto al maíz (40 a 50% de la superficie del huerto). Pero se ha tenido una crecimiento de las plantas exacerbado, razón por la cual fue realizado el presente trabajo, para entender dicho proceso.

OBJETIVO

Con la finalidad de saber el efecto del electromagnetismo sobre el crecimiento del maíz en huertos urbanos es que se realizó el presente trabajo.

Específicos:

- 1.- Siembra de la misma semilla de maíz criollo, en las mismas fechas en ambiente urbano y rural.
- 2.- Medición de tallos, altura, raíz y espiga, al momento de cosecha.
- 3.- Peso de plantas, espiga y raíz, al momento de la cosecha.
- 4.- Comparación de fructificación entre ambientes.

MATERIAL Y METODOS

Selección de semilla.

Se utilizó semilla criolla de maíz blanco del ciclo anterior, sin tratamiento antifúngico.

Siembra y cuidados en huerto Constitución de 1917

En el huerto urbano el área norte del huerto Constitución de 1917 (coordenadas 19°20'45"N 99°03'50"O), se utilizaron 6 camas biointensivas de 1m x 8 mt en una superficie total de 80m². Se sembró el 27 de abril de 2023, en grupos de 3 semillas por punto a profundidad de aproximadamente 8 cm y a distancia de 45cm.

Se hizo aporcado conforme aparecían las raíces adventicias. Se retiraron arvenses periódicamente. No se agregó algún otro fertilizante ni agroquímico. Se aprovechó el periodo de agua pluvial, pero además se hicieron riegos periódicos de agua tratada, debido a que la humedad residual en el medio urbano se pierde rápidamente.

Siembra en el medio rural

Se sembró el 28 de abril de 2023, una parcela de 300m² en el municipio de Ayapango de Gabriel Ramos Millán (coordenadas 19°07'35"N 98°48'10"O), Estado de México colindante con el municipio de Amecameca, en el área de los volcanes. Se trazaron 12 surcos de 25 metros de largo. Se colocaron 3 semillas por mata a distancia de 90cm entre cada una. Para el riego se aprovechó solo el agua pluvial de la temporada. Se mezcló 1:3 de urea y fosfato diámónico (DAP), de la mezcla se colocó de 40 a 50gr por mata. Se hizo el aporcado conforme aparecieron las raíces adventicias. Se retiraron arvenses periódicamente. No se usó algún otro agroquímico (Figura 3).



Fig 3. Huerto en medio rural, Ayapango, Estado de México.

Medición de variables

A fines de septiembre de 2023 (a 5 meses de la siembra) se seleccionaron aleatoriamente 25 plantas en cada lugar de cultivo (medio urbano y rural) midiendo con un metro flexible el largo total, raíz, y espiga de cada planta. Así como con un vernier, el diámetro en la zona basal media y alta del tallo. Se pesaron en una báscula y contabilizó la fructificación.

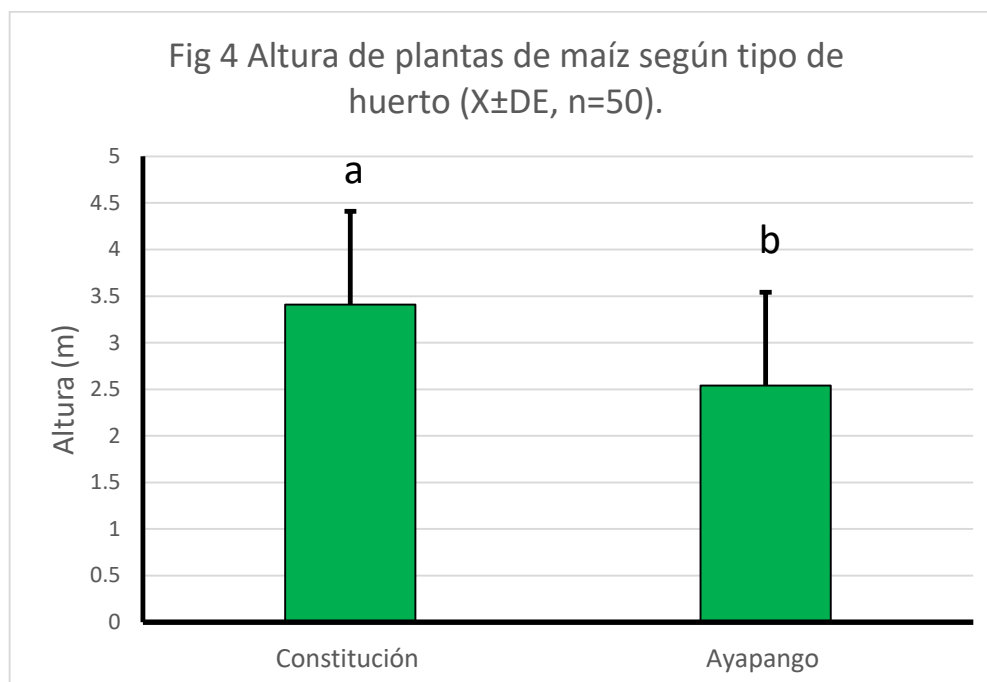
Análisis estadísticos

Para verificar si existían diferencias significativas, los valores obtenidos fueron ordenados para realizar estadística básica y posteriormente se hicieron pruebas con t-Student de datos pareados con nivel de significancia de 0.05.

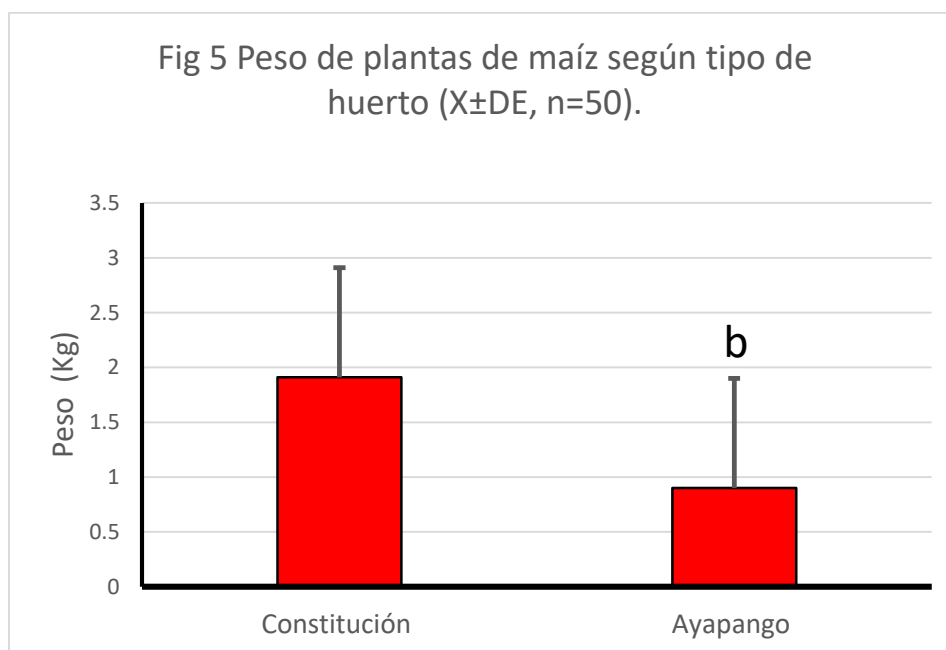
RESULTADOS

Se encontró que el maíz en el huerto Constitución fructificó en un 10% en tanto que en el medio rural fue del 100%.

La altura de las plantas fue mayor en el huerto Constitución de 1917 con un promedio ($\pm$ DE) de 3.41 ± 0.39 m, en tanto que la altura alcanzada por las plantas en el medio rural (Ayapango) fue de 2.54 ± 0.34 m, mostrando entre ambos diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). (Figura 4)



El peso de las plantas en el huerto Constitución de 1917 ($X \pm DE$) fue de 1.91 ± 0.49 kg en tanto que en huerto de Ayapango fue de 0.9 ± 0.34 kg con diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) (Figura 5).



DISCUSIÓN

La moda de cultivar vegetales en huertos urbanos, es importante por algunos de sus grandes beneficios como son la terapia de ocupación, la generación de alimentos y de otros satisfactores tales como plantas condimenticias, medicinales y ornamentales, así como otros subproductos (hojas,

tallos para elaboración de compostas y artesanías), pero destacando entre todas ellas, la construcción de tejido social que en gran parte de nuestras urbes se ha vuelto muy laxo y en ocasiones inaparente. Muchas acciones políticas y civiles han reconocido que la firmeza y salud del tejido social, es el primer paso para rescatar nuestra sociedad del egocentrismo (Bergoglio, 2015). Sin embargo también hay que considerar los riesgos de los huertos y sobre todo aquellos que pueden atentar contra la salud, entre los cuales podemos mencionar, la suficiencia y la calidad del agua, para riego, en tanto que en el medio rural la temporada de lluvias es suficiente para lograr el cultivo por ejemplo del maíz, en el medio urbano debido a condiciones específicas micro climáticas hacen que pronto se pierda la humedad residual luego de una lluvia, requiriendo complementar la humedad con riegos, pero dado lo restringido de éste, en especial en tiempos recientes de estrés hídrico, no es conveniente competir por este recurso que debe estar destinado para satisfacer necesidades primarias de la sociedad, sin embargo el agua tratada no es una alternativa adecuada, tal y como hoy se hace en muchos de los huertos urbanos, sino que debe implementarse en las Plantas tratadoras de aguas residuales, lo necesario para lograr agua tratada para la agricultura, tal y como se hace en algunas ciudades del mundo (Chacalo, et al., 2017). Por otro lado las partículas suspendidas y el microbismo ambiente aunado a los metales pesados debe ser algo a considerar en la producción de alimento dentro de las urbes. En el caso del sustrato (suelo), el compostaje ha sido un gran aliado para reciclar residuos orgánicos del huerto a la vez que genera abono orgánico de excelente calidad, sin olvidar que en este proceso también se requiere del agua (Chacalo, 2017). Por otro lado a pesar de que las autoridades políticas o las organizaciones civiles tienen la posibilidad de solicitar espacio público con fines de establecimiento de huertos, es importante la consideración que se hace en el presente trabajo, con respecto a estar debajo de torres electrificadas de distribución de alta tensión, porque el efecto de electromagnetismo pudiera ocasionar algún cambio en las plantas seleccionadas para el cultivo (Armesto et al., 2015). En este caso se verificó que el cultivo del maíz bajo estas condiciones lleva a un crecimiento exacerbado de la planta, posiblemente por la mayor atracción de los iones disueltos en el sustrato, así como a aumentar el proceso de absorción radicular, lo que ocasiona que haya gran disposición de nutrientes lo cual acelera la actividad metabólica y en consecuencia el crecimiento (Jurado, 2021). Si la finalidad del cultivo de maíz es la producción de forraje, sería un camino adecuado, pero si el objetivo es la producción de fruto (elote o mazorca), en el presente trabajo, se observó que esto se ve interferido, alcanzando apenas un 10% de fructificación. A este respecto es importante considerar para futuras investigaciones relacionadas, el cuantificar el campo electromagnético para definir la cantidad de teslas o de gauss generados y hacer análisis comparativos. También es posible verificar la calidad y cantidad de polen producido, e intentar hacer manualmente la polinización de las vellosidades del reproductor femenino, para generar más fruto, esto en la consideración que, en el medio urbano la población de plantas de maíz es restringida y posiblemente requerirá asistencia en eventos reproductivos y productivos a diferencia de lo que ocurre en el medio rural, y en especial en Ayapango, donde el cultivo dominante es el maíz, con lo cual la producción de polen es abundante y los vientos posibilitan la fecundación cruzada aérea, además de los insectos polinizadores, los cuales son abundantes en la zona, debido a la producción tradicional que impera en dicha zona.

CONCLUSIÓN

Se concluye que en las condiciones del presente estudio el electromagnetismo ocasionó mayor crecimiento de la planta del maíz en el huerto de Constitución de 1017 en Iztapalapa, pero no fomentó su fructificación. En tanto que en el huerto en el medio rural, las plantas fueron de menor talla pero la fructificación fue del 100%.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- A. Armesto, W. Angaritya. R. Lobo. (2015) Efectos de la radiación electromagnética sobre la germinación del maíz. *Tecnura* 19(45): 65-73.
DOI: <http://dx.doi.org/10.14483/udistrital.jour.tecnura.2015.3.a05> Colombia.
- 2.- JM: Bergoglio. Papa Francisco. *Laudato Si. El cuidado de la casa común*. 2015. Enciclica. 246pp

- 3.- M.V, Carbonell., M. Flórez, E. Martínez., J. Álvarez. (2017). Aportaciones sobre el campo magnético: historia e influencia en sistemas biológicos. *Intrópica: Revista del Instituto de Investigaciones Tropicales* 12(7):143-159. Colombia.
- 4.- A. Chacalo, A. Chimal, V. Corona, V. Fuentes. *Temas de Arboricultura*. 2017. UAM Azcapotzalco. Tomo I y II.
- 5.- N. Jurado (2021) Evaluación en la germinación de semillas de 2 especies arbóreas tropicales, por estimulación ultrasónica y electromagnética, con fines de conservación de las especies. Tesis e pregrado. Universidad Católica de Manizales. Colombia. 40pp
- 6.- E. Montuy (2019) Electromagnetismo. UNAM. México.
<https://recursoseducativos.unam.mx/handle/123456789/23197>
- 7.- J. Sarukhán. J. Carabias, J. de la Maza. *Patrimonio natural de México. Cien casos de éxito*. 2010 UNAM-CONABIO. 240pp.

RELACIÓN PROTEÍNAS CON EL USO DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (BPCV) EN PLANTAS DE FRESA BIOFORTIFICADO CON HIERRO EN INVERNADERO

Martha Isela Nuñez-Zavala¹, Oscar Gilberto Alaníz-Villanueva², Oscar Silva-Marrufo², Ixchel Abby Ortiz-Sanchez², Jaime Herrera-Gamboa²

¹Programa de Maestría en Ingeniería, Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana-Instituto Tecnológico de Durango, Durango, Dgo, México. ²Departamento de Ingenierías. Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango, Dgo, México.
1529.isela.nunez@gmail.com

RESUMEN

La fresa es uno de los cultivos de importancia socioeconómica, ya que en el fruto posee un alto valor nutricional para la humanidad. A nivel mundial México se coloca en la posición número tres en la producción de fresas y con tan solo el 1% de la producción ha sido de manera orgánica. Los microorganismos de importancia agrícola representan una estrategia ecológica hacia el desarrollo integrado como manejo de nutrientes, enfermedades y plagas con el propósito de reducir el uso excesivo de productos químicos en la agricultura. Tal es el caso de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) que hoy en día son utilizados como biofertilizantes en los cultivos, ya que promueven el crecimiento de la planta fijando nitrógeno atmosférico, solubilizando el potasio y el fósforo inorgánico y mejorando la tolerancia al estrés hídrico. El objetivo de la presente investigación fue evaluar los compuestos bioactivos (Antioxidantes, fenoles y flavonoides totales), así como los carbohidratos y antocianinas totales del cultivo de fresa fertilizados con el uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (*Rhizophagus*, *Bacillus*, *Azospirillum Brasiliense* y *Azotobacter*) y la aplicación de hierro en forma de sulfato de hierro (Fe SO₄). El experimento se realizó bajo invernadero del Tecnológico Nacional de México campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana en el estado de Durango, México. El trasplante del cultivo de las fresas se realizó en el mes de julio en camas cubiertas de plástico y bajo un sistema de fertirrigación con una densidad de población de 320 plantas. Los tratamientos fueron T₁ Nitrobac®, T₂ Biokomplet® y T₃ testigo. Durante el periodo de 120 días después del trasplante (DDT) se cosecharon los frutos y se evaluaron las variables dependientes que fueron % de antioxidantes, fenoles (mg EA/g) y flavonoides totales (mg CAT/100 g), así como carbohidratos (g), antocianinas totales (mg EA mL) y el % en °Brix. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante análisis de varianza bajo un diseño de bloques al azar con cinco repeticiones por tratamiento; posteriormente se empleó una prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). El tratamiento 1 (Nitrobac®) obtuvo una mayor concentración en los Flavonoides totales (0.433 mg CAT/100g), los contenidos fenólicos (4.02 mg EA/g) y los antioxidantes (60.00 ABTS%) superando al T₂ (Biokomplet®) y al testigo. En cambio, el T₂ (Biokomplet®) obtuvo mayor concentración en carbohidratos totales (2.855 g) y antocianinas totales (8.900 mg EA/ mL). Sin embargo, el índice de azúcares en los tratamientos 1 y 2 aumento hasta un 16% superando al testigo. El uso de microorganismos como biofertilizante Nitrobac® y Biokomplet® puede ser una alternativa económica y sustentable para su uso en la producción del cultivo de fresa.

INTRODUCCION

La fresa (*Fragaria* sp.) es una de las frutas de mayor aceptación mundial y es también una de las que tiene mayores usos, entre los que se encuentran su exportación e importación como producto fresco. El 95% de la producción mundial se concentra en el hemisferio norte siendo la especie tipo Berry más extensamente cultivada (INIFAP, 2020). Los principales estados productores de fresas son Michoacán (431 miles de toneladas), Baja California (123 miles de toneladas) y Guanajuato (79 miles de toneladas) (SIAP, 2021).

La intensificación del uso agrícola de la tierra ha modificado algunas características de la fertilidad nativa del suelo, principalmente ha causado disminución de la materia orgánica (Solis, 2004). La aplicación de fertilizantes químicos de origen industrial tiene un alto costo para el campesino y es incosteable por la baja rentabilidad que las inversiones tienen en la agricultura. Por lo anterior, es

importante comprender el efecto que tiene la intensificación del uso agrícola de la tierra que intervienen en el mantenimiento de la fertilidad del suelo y la nutrición de las plantas. Los microorganismos utilizados en los biofertilizantes son capaces de sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de la planta, fijando nitrógeno atmosférico, solubilizando hierro y fósforo inorgánico y mejorando la tolerancia al estrés hídrico, salinidad, metales pesados y exceso de pesticidas, por parte de la planta y/o poseer la capacidad de disminuir o prevenir los efectos de deterioro de microorganismos patógenos dependiendo del grupo de microorganismos al que pertenezcan. Además de mejorar las características físicas del suelo y controlar algunas enfermedades del suelo que causan la pudrición de raíces, y un aumento en la actividad microbiana (Romero *et al.*, 2021).

Por lo tanto, los microorganismos de importancia agrícola representan una estrategia ecológica hacia el desarrollo integrado como manejo de nutrientes, enfermedades y plagas, con el propósito de reducir el uso de productos químicos en la agricultura, así como mejorar el rendimiento de los cultivos; juegan un papel importante en los sistemas agrícolas, particularmente los microorganismos promotores del crecimiento, que aumentan el desarrollo de las plantas y suprimen las enfermedades en ellas. Algunos microorganismos son capaces de establecer simbiosis mutualista con las plantas tales como las rizobacterias promotoras de crecimiento del género *Azospirillum* que fijan nitrógeno atmosférico. El interés agronómico en la actividad microbiana se debe a su potencial para reciclar los nutrientes, mejorar la nutrición de las plantas y disminuir o sustituir la aplicación de fertilizantes de origen industrial (Actividad microbiana) (Solís, 2004).

El interés agronómico sobre la actividad microbiana se enfoca en mejorar la nutrición de las plantas y disminuir o sustituir la aplicación de fertilizantes. La actividad microbiana es regulada por las características físicas y químicas del suelo, por la composición de los materiales orgánicos y por la naturaleza de la comunidad microbiana (Alexander, 1980; Álvarez-Solís y León-Martínez, 1997). Estos factores varían con los cambios en el uso del y con su fertilidad.

TEORIA

Las Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal son un grupo de diferentes de distintos microorganismos que incrementan el crecimiento y la productividad vegetal. Los géneros más conocidos y utilizados en la agricultura son: *Rhizobium*, *Pseudomonas*, y *Azospirillum*, *Actinoplanes*, *Agrobacterium*, *Azobacter*, *Bacillus* (Camelo *et al.*, 2011). Actúan a través de diversos mecanismos fungiendo como bioestimulantes, fitoestimulador, biopesticidas o agentes de biocontrol, estos microorganismos desempeñan un papel clave en la toma de nutrientes, la tolerancia a estrés ambiental y, en general, el mantenimiento de la salud radicular, favoreciendo así el aumento del rendimiento de los cultivos (González-León *et al.*, 2022).

Más de un tercio de la población mundial padece de deficiencia de hierro (Fe) siendo de los sectores más afectados el de las mujeres en edad reproductiva y el de los niños. Las plantas son la principal fuente de hierro en la mayoría de las dietas, por lo que asegurar el consumo de frutas y vegetales con un adecuado nivel de hierro constituye una parte medular en las estrategias de mejoramiento del nivel nutricional de los humanos (Mendoza, 1999).

El hierro (Fe) es un micronutriente esencial para las plantas, ya que desempeña funciones claves en la síntesis de clorofila, mantiene la estructura de cloroplastos y la actividad enzimática. A pesar de que el hierro es el cuarto elemento más abundante en la tierra, y el suelo generalmente contiene entre 1 a 5% de hierro total, la mayor parte del hierro en el suelo se encuentra en minerales de silicatos u óxidos e hidróxidos de hierro, formas que no están disponibles para las plantas, lo que puede causar deficiencias en los cultivos y mermar los rendimientos en cultivos agrícolas (Guerrero-Martin *et al.*, 2023).

En plantas y otros organismos una gran parte del Fe se encuentra asociado con porfirinas. Las porfirinas con Fe de animales y hongos son principalmente moléculas hem, mientras que en las plantas son citocromos los más comunes. Los citocromos se encuentran como partes funcionales de los sistemas respiratorios. Aunque el Fe es el cuarto elemento más abundante de la corteza terrestre, la deficiencia de hierro es un problema común a prácticamente todas las especies de los seres vivos (Tako, 2019). El Fe se representa en dos estados de oxidación: el Fe^{+3} (Ar3d^5) o el férrico y el Fe^{+2} (Ar3d^6) o ferroso (Carbajal-Azcona, 2017). En presencia de O_2 el Fe^{+2} es oxidado rápidamente a Fe^{+3} , el cual es poco soluble en agua y en donde se precipita en óxidos de Fe (Peláez-

Morales *et al.*, 2013). Por lo tanto, en nuestra atmosfera rica en O₂, la forma termodinámicamente más estable del hierro es también la de más difícil acceso para los organismos. La causa de esto es que los iones de metales pesados (como el Fe, Zn o Cu) no atraviesan libremente la membrana celular (Ropero-Lara, 2017).

PARTE EXPERIMENTAL

Descripción del área de estudio

El establecimiento del cultivo de fresa se llevó a cabo en el Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango Dgo. en el área del invernadero tipo sierra pasivo 8x15 m en el cual se comenzó con la inoculación del invernadero y se colocó el acolchado en cada una de las camas. Posteriormente se trasplantaron 320 plantas de fresa de la variedad Albiol divididas en las cuatro camas con 80 plantas cada una, posteriormente se le dio el manejo agronómico correspondiente como, fertilización orgánica, riego por goteo, y se inhibieron plagas y enfermedades con productos orgánicos de la marca comercial Agribest® (Tabla 1). Todo esto fue con la intención de tener más nutrida las plántulas de fresa.

Tabla 1. Fertilización orgánica aplicada en plantas de fresa

Biofertilizantes:	Dosis:
PowerRoot®	1.5 mL/1 L
Sistema Magnificador®	2.5 mL/1 L
Sistema Arrancador®	2.5 mL/1 L
Té de composta	5 L/20 L
Ácidos Húmicos	50 mL/20 L

La unidad experimental consistió en un diseño de bloques completamente al azar con un total de 2 tratamientos y un testigo, de 4 repeticiones cada uno. Los tratamientos fueron: Nitrobac®+Hierro, Biokomplet®+Hierro y el testigo (Tabla 2).

Tabla 2. Tratamientos usados en plantas de fresa

Tratamientos	BPCV	Dosis	Hierro g/L
T1	Biokomplet®	2.5 g/L	0.30
T2	Nitrobac®	2.5 mL/L	0.30
T3	Testigo	-----	-----

Las aplicaciones de los tratamientos fueron de manera en aspersión y drench realizándose cada 15 días consecutivos. Una vez que las plantas entraron en fase productiva se realizaron los análisis de compuestos bioactivos y físicos, los cuales se desarrollaron en la Universidad Tecnológica de Rodeo Durango.

Cuantificación de carbohidratos totales

Se apegó mediante la técnica descrita por Albalasmeh *et al.* (2013), se tomó de referencia 1 g de la pulpa de fresa, se depositó mediante un tubo de ensaye de 10 mL, posteriormente se adicionaron 4 mL de ácido sulfúrico al 97% y se dejó en reposo por 24 h y se bajó la temperatura en hielo, se retiró la alícuota, se depositó en cubeta de cuarzo y se sometió a una longitud de onda de 320 nm, para la calibración del equipo fue necesario añadir ácido sulfúrico sin la muestra a baja temperatura y posteriormente se cuantificó introduciendo la muestra en el espectrofotómetro Genesys30sV (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EE. UU.), y los datos se reportaron en gramos.

Cuantificación de Antocianinas totales

La cuantificación de las antocianinas totales fue necesaria apegarse a la metodología descrita por Bursać *et al.* (2015), para esto se tomó en cuenta elaborar dos soluciones stock con cloruro de potasio (KCl) con un pH de 1.0 y con acetato de sodio hasta alcanzar un pH de 4.5. Posteriormente se depositaron 25 µL de la solución tampón 1, 0.5 mL de la solución tampón 2 y 0.5 mL del extracto metabólico de cada muestra (Pulpa de la fresa), posteriormente fueron introducidos

mediante tubos de ensayo con tapa con capacidad de 10 mL. Se homogenizaron las mezclas y se pasó mediante un vortex digital (Datamed, USA) durante 15 min a 100 rpm y se centrifugaron por un tiempo estimado de 15 min a 2500 rpm.

Después fueron introducidas en 100 µL de cada tratamiento mediante las cubetas de cuarzo, las cuales posteriormente se sometieron a una longitud de onda de 520 y 700 nm, utilizando el espectrofotómetro Genesys30sV (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EE. UU.). Al final fueron informadas en miligramos equivalentes de antocianinas por mililitro (mg EA mL). Ecuación 1 y 2.

$$\text{Anthocyanin Equivalents} = \frac{(A \cdot MW \cdot DF \cdot 103)}{(\epsilon \cdot 0.38)} \quad (1)$$

$$A = (A_{520} - A_{700}) pH_{1.0} - (A_{520} - A_{700}) pH_{4.5} \quad (2)$$

Donde:

MW= Es el peso molecular de cianidina 3-glucósido (449,2 g mol⁻¹).

DF= Es el factor de dilución.

ε= Es el coeficiente de extinción molar de cianidina 3-glucósido (26900 L mol⁻¹ cm⁻¹).

La constante: 0.38, lo que refleja la longitud de onda (cm).

La constante 103 es el factor de conversión de gramos a miligramos.

Capacidad antioxidante bajo el método de ABTS+

Para la preparación de las soluciones se desarrolló según la metodología empleada por Enciso-Gutiérrez *et al.* (2010), mediante un tubo de ensayo de 10 mL se introdujo 1 g de pulpa de fresa y se le agregaron 20 mL de alcohol etílico más 6 mL de agua destilada, con el fin de obtener una reacción en relación de 1:3, al término de este bioensayo se cubrió y se almaceno durante un periodo de 72 h bajo resguardo. La cuantificación de la capacidad antioxidante fue mediante la técnica propuesta por Martysiak-Zurowska y Wenta (2012), fue necesario tomar 100 µL del extracto hidroalcohólico de la muestra anterior y 1 mL de la solución del radical ABTS+, posteriormente fueron mezclados en 5 mL de solución 7 (mM) de ABTS+ y 88 µL de solución de persulfato de potasio 140 mM (Peñarrieta *et al.*, 2008). Toda la mezcla homogénea se diluyó mediante ácido ascórbico hasta obtener un pH de 5,0 y una absorbancia de 0,7 nm.

Todas las mediciones se realizaron a una longitud de onda de 734 nm después de 3 min de reacción y a temperatura ambiente. Los resultados se expresaron construyendo una curva estándar utilizando trolox (0-200 µmol/L) como antioxidante. Todas las muestras se dejaron reposar por un periodo de 15 min y posteriormente se introdujeron en un espectrofotómetro Genesys30sV (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) a una longitud de onda de 414 nm, se obtuvo un R^2 de 0.9886, los datos obtenidos se reportaron en porcentajes de inhibición de radicales libres según la ecuación 3.

$$\text{Inhibition percentage} = 1 - \frac{(A_i - A_0)}{RA} \times 100 \quad (3)$$

Dónde:

A_i = Es la absorbancia de la muestra (con el radical libre).

A_0 = A la absorbancia del blanco (con etanol añadido).

RA = Es la absorbancia de referencia (que contiene el radical y el disolvente de la muestra).

Determinación de índice de madurez [%]

El índice de madurez se desarrolló mediante la técnica descrita por Burgos-Briones *et al.* (2020), fue necesario titular con NaOH, se utilizó 5 mL de extracto de la muestra y 45 mL de agua destilada, 4 gotas de fenolftaleína como indicador del viraje, se mezcló y se agito mediante un agitador de vidrio hasta que la muestra se tiñó del color característico y se determine el cálculo del porcentaje de acidez, los presentes resultados fueron expresados como gramos de ácido cítrico/100 g de la muestra mediante la ecuación 4.

$$\% \text{ Acidez} = V_t \cdot N \cdot \text{Meq} \cdot 100 / V_m \quad (4).$$

Dónde:

V_t : Volumen en mL

N : Normalidad de la base

Meq : mililitros equivalentes del ácido predominante

V_m : volumen del ácido

Extracción y cuantificación de fenoles totales

La extracción fue desarrollada por la técnica aplicada por Muñoz-Jáuregui *et al.* (2014), mediante ligeras modificaciones, para esto fue necesario liofilizar la muestra mediante aire comprimido, posteriormente se llevó al proceso de molienda, de esa misma muestra se tomaron en cuenta 50 mg posteriormente se adiciono 3 mL de agua destilada y 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteu, 750 µL de Na_2CO_3 al 20% y un µL de agua destilada mediante un tubo de ensaye, la mezcla se dejó en reposo en un periodo de 30 min, después es sometido a una longitud de onda de 765 nm en el espectrofotómetro Genesys30sV (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), para obtener los resultados se desarrolló una curva de calibración con ácido gálico y los resultados fueron expresados como mg EAG/g.

Extracción y cuantificación de flavonoides totales

Para la extracción de flavonoides totales fue necesario extraer 250 µL de extracto, para lo cual se le adicionaron 1000 µL de agua des ionizada y se le añadió 75 µL de NaNO_2 , posteriormente se dejó reposar la muestra en un periodo de 5 min, se le adicionaron 75 µL de AlCl_3 al 10% y se mezcló en 500 µL de NaOH M, se centrifugo a 3500 rpm durante 5 min, después fueron sometidos a una longitud de onda de 510 nm mediante el espectrofotómetro Genesys30sV (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA), los resultados fueron expresados en mg CAT/100g de muestra (Zhishen *et al.*, 1999).

Contenido total de grados Brix

Los brix miden el porcentaje de azúcares contenidos en el fruto, los cuales componen entre el 75 – 85% de los SST, en la mayoría de los frutos (Magwaza y Opara, 2015). Los SST lo componen ácidos, azúcares, fenoles, minerales, pigmentos, proteínas y vitaminas disueltas en el fruto (Magwaza y Opara, 2015). Debido a que los °Brix constituyen la mayor parte de los SST, los °Brix se han generalizado y aceptado como medida de los SST. Para conocer el nivel de azúcar presente en el fruto, se utilizó un refractómetro el cual es un instrumento óptico que determina la refracción de la

luz en el jugo de la fruta. Para medir el grado brix se colocó una muestra de jugo del fruto de cada uno de los tratamientos en el prisma del refractómetro y luego se leyó el valor en la escala correspondiente (Barrera, 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), y hierro en frutos de fresa

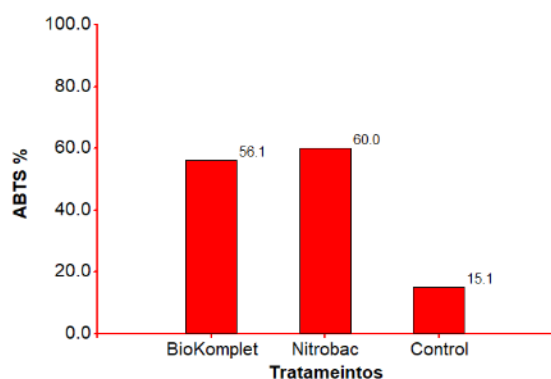
El efecto de las BPCV en los compuestos bioactivos en frutos de fresa, el tratamiento 1 (Nitrobac®) obtuvo una mayor absorción de flavonoides totales (0.433 mg CAT/100g), los contenidos fenólicos (4.02 mg EA/g) y los antioxidantes (60.00%) superando al T₂ (Biokomplet®) y al testigo. En cambio, el T₂ (Biokomplet®) obtuvo mayor absorción de carbohidratos totales (2.855 g) y antocianinas totales (8.900 mg EA/ mL). Sin embargo, el índice de azúcares en los tratamientos 1 y 2 aumento hasta un 16% superando al testigo. Sin embargo, los estudios realizados por Aguayo-Rojas *et al.* (2022), supero ambos compuestos bioactivos hasta un 40% en variedades de frijol aplicando mejoradores de suelo. Por otro lado, los estudios por Oviedo-Solís *et al.* (2018), mencionan que todas las propiedades antioxidantes en frutas de fresa pueden minimizar el estrés oxidativo y pueden contribuir en agravar en algunas enfermedades. Además, las fresas producidas de manera orgánica pueden fomentar una mayor absorción de contenidos fenólicos hasta un 50% en peso fresco (López, 2017).

Tabla 3. Compuestos bioactivos presentes en fruta de fresa

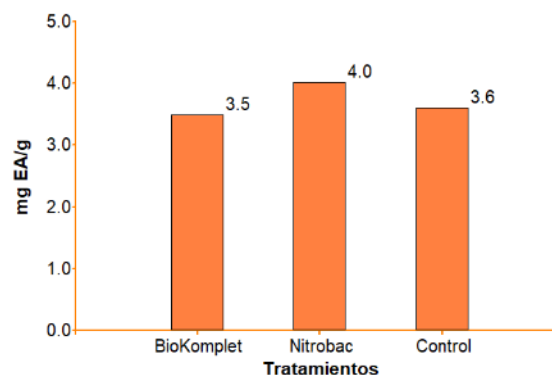
Tratamiento	Flavonoides totales (mg CAT/100g)	Contenidos fenólicos EAG/g)	(mg	Capacidad antioxidante (%)	ABTS
Biokomplet ®	0.301a	3.49a		56.07b	
Nitrobac ®	0.433a	4.02a		60.00a	
Control	0.401a	3.60a		15.06c	

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos (Tukey; $p \leq 0.05$), $n=5$; mg de CAT/100 g= miligramos equivalentes de catequina por 100 g; mg EAG/g= miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo.

Grafica 1.- Capacidad Antioxidante



Grafica 2.- Contenidos Fenólicos



Grafica 3.- Flavonoides Totales

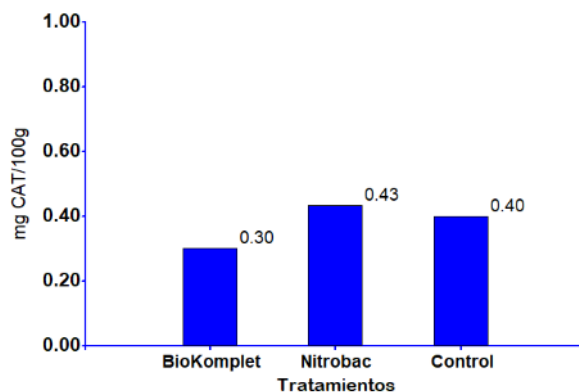


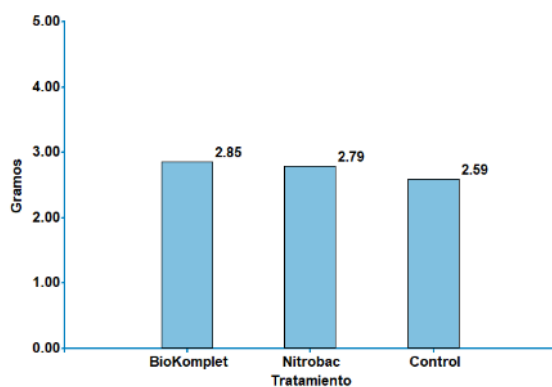
Tabla 4.- Componentes bioquímicos y físicos presentes en frutos de fresa

Tratamiento	Carbohidratos totales (g)	Antocianinas totales (mg EA/mL)	Acidez titulable (g/100 mL de ácido cítrico)
Biokomplet ®	2.855a	8.900a	14.8a
Nitrobac ®	2.788a	4.552b	10.0b
Control	2.59a	3.83b	15.2a

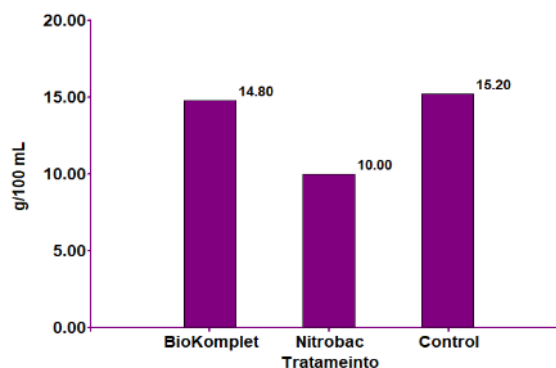
Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos (Tukey; $p \leq 0.05$), $n=5$; g= gramos; mg EA/mL= miligramos equivalentes de antocianinas por mililitro.

Sin embargo, la aplicación de NH_4^+ aumenta las concentraciones de acidez en frutos (Zhang *et al.* 2019), aunque difiere este mismo autor que la aplicación de fertilización mezclado con K puede aumentar los niveles de °brix hasta un 5% (Zhang *et al.*, 2017). Por otro lado, las absorciones de antocianinas totales en frutos rojos de fresa pueden ser influenciada por la aplicación del nitrógeno con el fin de que la fruta tenga calidad nutricional en varios aspectos (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2019).

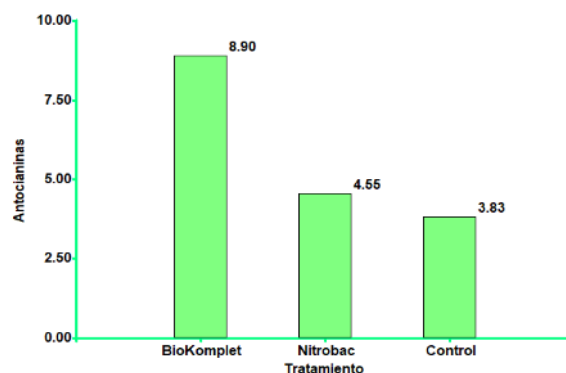
Grafica 4.- Carbohidratos Totales



Grafica 5.- Acidez Titulable



Grafica 6.- Antocianinas



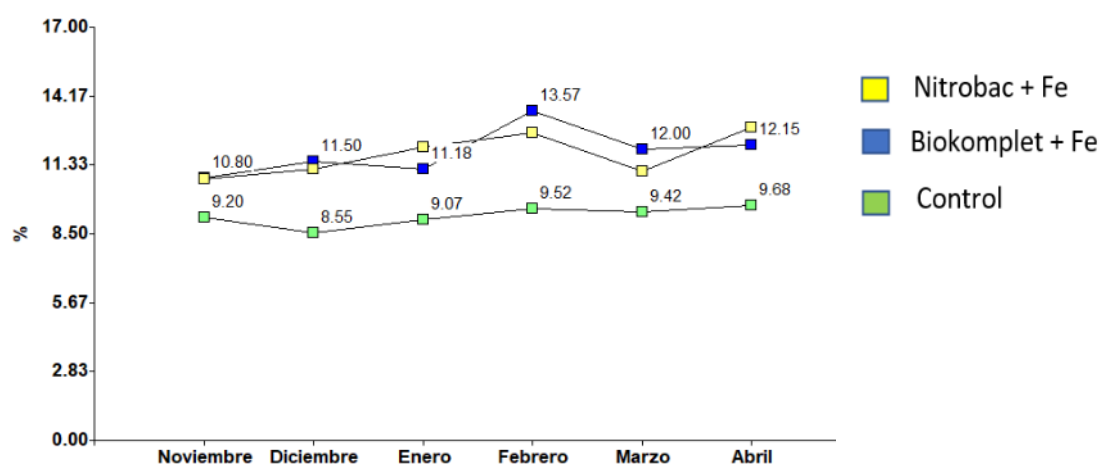
De acuerdo al análisis de varianza ($p \leq 0.05$) realizado con respecto a los °Brix medidos en frutos de fresa en los meses productivos (2023, 2024), se observó que las plantas que no recibieron bacterias promotoras de crecimiento vegetal, se observó un nivel bajo de °Brix en comparación con los tratamientos 1 y 2 respectivamente, sin embargo, el tratamiento 2 obtuvo un incremento mayor en el mes de marzo (Tabla 5). Los frutos cosechados en estado rojo obtuvieron las mayores mediciones de °Brix. Los hallazgos por Silva-Marrufo *et al.* (2020), incrementaron los valores de °Brix en frutos de fresa al aplicar ácido salicílico y yodo a concentraciones de $50 \mu\text{Mol L}^{-1}$ respectivamente, aplicando como fertilización química una solución Steiner. Los hallazgos por Lechuga-García *et al.* (2024), mencionan que los productos orgánicos foliares aumentan un 3% el rendimiento, la calidad física y química de los frutos de zarzamora variedad 'Tupi' a diferentes climas y un ligero porcentaje de °Brix. Sin embargo, la investigación por Pauletti-Volnei *et al.* (2021), difieren que la aplicación de soluciones nutritivas con exceso de NH_4^+ aplicados en frutas de fresa en sistemas semi-hidropónico obtienen valores 8.5, en °Brix

Tabla 5.- Resultados promedios de °Brix en el fruto de fresa

Meses evaluados	Nitrobac® (T ₁)	Biokomplet® (T ₂)	Testigo
Noviembre	10.80±1.56ab	10.78±1.56b	9.20±0.45a
Diciembre	11.50±1.24ab	11.18±0.63b	8.55±0.64a
Enero	11.18±0.74ab	12.08±0.62b	9.08±1.44a
Febrero	13.56±1.96ab	12.68±1.81b	9.53±0.99a
Marzo	12.00±1.41ab	11.08±1.51b	9.43±0.55a
Abril	12.15±1.30ab	12.90±2.07b	9.68±1.20a

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencia significativa entre tratamientos (Tukey; $p \leq 0.05$), n=5; $\pm$ = Desviación estándar.

Grafica 7.- Grados Brix



CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos de las pruebas implementadas, se puede concluir que una buena combinación de abonos orgánicos y fertilizantes orgánicos puede permitir una reducción en el uso de agroquímicos, en beneficio del ambiente y de la salud de los consumidores, al obtenerse cosechas y productos inocuos y con menor contenido de residuos químicos. Por ello utilizar estrategias ecológicas como el caso de las bacterias y la aplicación de hierro puede ser una alternativa sustentable y económica para la producción de fresa.

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al CONAHCYT por la beca otorgada de los estudios de Maestría en Ingeniería que actualmente está en el padrón del Sistema Nacional de Posgrados y a los Institutos Tecnológicos de Durango y Valle del Guadiana por la facilitación de insumos y asesorías de los investigadores.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguayo-Rojas, J., Rochín-Medina, J. J., Mora-Rochín, S., Navarro-Cortez, R. O., Tovar-Jimenez, X., Quiñones-Reyes, G., y Ayala-Luján, J. L. (2022). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. *Acta Universitaria*, 31, 1–13. <https://doi.org/10.15174/au.2021.3059>
2. Barrera, J. M. (2021). Evaluación de grados brix como herramienta para determinar el punto óptimo de cosecha con dos aplicaciones de k en tomate. *Universidad tecnica de Ambato*, 13-15.
3. Carbajal-Azcona, Á. (2017). Manual de nutrición y dietética. UCM. <http://tinyurl.com/2n82un3k>
4. Cárdenas-Navarro, R., López-Pérez, L., y Lobit, P. (2019). Efecto de la época de aplicación del N y período de cosecha en la producción y calidad de frutos de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch). *Scientia Agropecuaria*, 10(3), 337-345. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.03.03>
5. González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., y Mercado-Flores, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 25, e520. Epub 26 de junio de 2023. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>
6. Guerrero-Martin, C. A., Ortega-Ramírez, A. T., Silva-Marrufo, Ó., Casallas-Martín, B. D., Cortés-Salazar, N., Salinas-Silva, R., ... & DV Duarte, E. (2023). Biofortification of Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Crops Applying Zinc Sulfate and Ferric Sulfate: Pilot Crop in Colombia. *Molecules*, 28(5), 2004.
7. Lechuga-García, R. E., Berdeja-Arbeu, R., Méndez-Gómez, J., Pérez-Marroquín, G. J., Vazquez-Cruz, F., y Enriquez-Garcia, F. (2024). Rendimiento y Calidad de Fruto de Zarcamora Tupi con Fertilización. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(1), 6036-6049. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.9950
8. López do Campo, J. (2017). Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico (en línea). Universidad De La Coruña. Consultado 09 jun. 2024. Disponible en <https://bit.ly/3M4Dul6>
9. Tako, E. (2019). Dietary trace minerals. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 11, p. 2823). MDPI.
10. Oviedo-Solís, C., Cornejo-Manzo, S., Murillo-Ortiz, B., Guzmán-Barrón, M., Ramírez-Emiliano, J. (2018). Los polifenoles de la fresa disminuyen el estrés oxidativo en enfermedades crónicas (en línea). *Gaceta médica de México* 154(1):80-86. Consultado 20 mar. 2023. Disponible en <https://bit.ly/3vj2VbD>
11. Pauletti-Volnei, J.G.L., Zawadneak, M.A.C., y Cuquel, F.L. (2021). Calidad de la fresa afectada por la relación nitrato: amonio en la solución nutritiva. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 753-763. Epub 14 de marzo de 2022. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.2764>
12. Peláez-Morales, H. A., Prada-Fonseca, M. C., Caicedo-Pineda, G., Moreno-Herrera, C. X., y Márquez-Godoy, M. A. (2013). Influencia de la relación inicial de Fe_3^+/Fe_2^+ , en un proceso de biodesulfurización de carbones en suspensión. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(2), 211-217. Recuperado en 07 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992013000200007&lng=es&tng=es.
13. Roper-Lara, A. B. (2017). *Minerales*. <https://badali.umh.es/assets/documentos/pdf/artic/minerales.pdf>
14. INIFAP. (2020).
15. Mendoza, A. B. (1999). Absorción y Asimilación de hierro en las plantas. Departamento de Horticuultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 1-18.
16. Romero, J. (2021). Dinámica de minerales y bacterias ácido lácticas en biofertilizantes líquidos desarrollados. 51-54.
17. SIAP. (2021).
18. Solis, J. A. (2004). Actividad microbiana del suelo bajo diferentes sistemas de producción de maíz. *Agrociencia*, 13-22.

19. Silva-Marrufo, O., Tinoco, R., & Castañeda-Venegas, J. A. (2020). Effect of Potassium Iodide and Salicylic Acid in the Cultivation of Hydroponic Strawberries (*Fragaria L.*). *Economics*, 4(7), 17-23.
20. Magwaza, L.S., and U.L. Opara. (2015). Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products—A review. *Sci. Hort.* 184:179–192
21. Zhang, W., Zhang, N.S.; Zhao, J.J., Guo, Y.P., Zhao, Z.Y., & Mei, L.X. (2017). Potassium fertilization improves apple fruit (*Malus domestica* borkh. Cv. Fuji) development by regulating trehalose metabolism. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 92(5):1-11. Doi: <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1304165>.
22. Zhang, J., Lv, J., Dawuda, M.M., Xie, J., Yu, J., Li, J., Zhang, X., Tang, C., Wang, C. & Gan, Y. (2019). Appropriate ammonium-nitrate ratio improves nutrient accumulation and fruit quality in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Agronomy*. 9(11):683. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110683>.

CARACTERIZACIÓN DE LA INTERACCIÓN BACTERIAS – PLANTAS EN CONDICIONES DE ESTRÉS SALINO

Reyna Karina Acametitla Cid², Dalia Molina Romero², María del Rocío Bustillos Cristales¹

¹Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ICUAP-BUAP, ²Facultad de Ciencias Biológicas – BUAP

reyna.acametitla@gmail.com

RESUMEN

La salinización es un estrés ambiental importante que afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas¹, puede causar crecimiento limitado de las raíces y aumenta la susceptibilidad de las plantas a la enfermedad de la pudrición de la raíz², por lo que se ha convertido en una amenaza creciente para la agricultura en todo el mundo³.

Ante este escenario, la biotecnología ambiental juega un papel preponderante para contrarrestar las múltiples afectaciones de la salinización⁴. De acuerdo a informes recientes, es posible usar bacterias halófilas aisladas de ambientes salinos como una posible alternativa de rehabilitación de suelos salinizados para la producción agrícola y agropecuaria⁵, gracias a los metabolitos de estas bacterias conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal halotolerantes (HT-PGPR)⁶.

En este proyecto se utilizaron las cepas *Pseudomonas putida* KT2440 y *Pseudomonas* sp. EpiPf10, ambas cepas fueron proporcionadas por el laboratorio de Ecología Molecular Microbiano en el Instituto de Ciencias Microbiológicas ICUAP-BUAP, esta última fue aislada de *Pseudomicrococcus fulviceps* en la biosfera de Tehuacán, Puebla, que al ser muy extenso y de acuerdo a la zona, podemos encontrar un ecosistema semiárido, bosque caducifoleo, bosque xerofito. Se estudió previamente a esta bacteria en el laboratorio y se observaron características metabólicas que muestra a *Pseudomonas* sp. EpiPf10 como (PGPR) y resistente a una concentración de 4% NaCl, el objetivo de este trabajo es evidenciar si las cepas *P. putida* KT2440 y *Pseudomonas* sp. EpiPf 10 promueve el crecimiento de *Raphanus sativus* L en mono -inoculación y en co-inoculación, bajo condiciones del estrés salino y sin estrés.

Se establecieron cuatro tratamientos: grupo control (sin inoculación), grupo KT (inoculación con *P. putida* KT2440), grupo E.10 (inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10) y grupo KT – E.10 (*P. putida* KT2440 y *Pseudomonas* sp. EpiPf10), cada tratamiento con 45 plantas. A los tratamientos con estrés se le añadió una solución de NaCl al 75 mM tres veces a la semana y tres inoculaciones (de acuerdo al tratamiento).

La altura total, altura de hojas, número de hojas, altura total de la raíz, la altura y diámetro del tubérculo de las plantas del grupo KT – E.10 (co-inoculación) fueron mayores y presentaron diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo control, seguido del grupo E.10 y del grupo KT. De acuerdo a los resultados se puede concluir que, las cepas *P. putida* KT2440 y *P. sp.* EpiPf 10, son bacterias halotolerantes que promueven el crecimiento de la planta bajo el estrés salino y en condiciones óptimas, por lo que se les puede considerar como posibles HT-PGPR.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la salinización del suelo afecta en gran medida el rendimiento de los cultivos en todo el mundo⁷. Se estima que actualmente alrededor de 62 millones de hectáreas o el 20% de la tierra irrigada del mundo está afectada por este problema⁸, el cual ha aumentado por los impactos nocivos del cambio climático acelerando su desarrollo, lo que podría extender el problema en un futuro cercano a las regiones que mantiene el equilibrio osmótico⁹. En este sentido, las estrategias agrícolas para abastecer la demanda de alimentos de la creciente población son de vital importancia¹⁰. La salinidad puede inhibir el crecimiento las raíces y aumentar la susceptibilidad de las plantas a la enfermedad de la pudrición de la raíz², afectando su crecimiento en general, la capacidad fotosintética, la síntesis de proteínas, síntesis de lípidos y metabolitos, así como el contenido total del nitrógeno¹¹.

Para mitigar esta problemática los sistemas agrícolas han utilizado diferentes estrategias de manejos rentables¹², los métodos convencionales de recuperación de suelo salino que involucran raspado,

lavado, lixiviación o adición de una enmienda (por ejemplo, el yeso y el CaCl_2) tienen una eficiencia limitada, consumen tiempo prolongado y causan pérdida de la biodiversidad⁸.

De acuerdo a investigaciones recientes, es posible usar bacterias halófilas aisladas de ambientes salinos como una posible alternativa de rehabilitación de suelos salinizados¹² gracias a los metabolitos de estas bacterias conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal halotolerantes (HT-PGPR)⁶. Dentro de estas bacterias destacan los géneros *Bacillus* sp., *Rhizobium* sp., *Pseudomonas* sp., *Azospirillum* sp., entre otros^{9 13}.

TEORÍA

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés), utilizan uno o varios mecanismos de acción para favorecer el crecimiento de estas, ya sea estimulando la absorción de los nutrientes o evitando la acción de microorganismos patógenos¹⁴.

Una especie con características PGPR es *Pseudomonas putida*, bacteria Gram-negativa con forma de bastoncillo que se puede encontrar en diversos hábitats ecológicos. Esta ubicuidad se remonta a su metabolismo notablemente versátil, adaptado para resistir el estrés fisicoquímico¹⁵. *P. putida* posee una cápsula compuesta de exopolisacáridos que facilita la adhesión celular, la formación de biopelículas y protege a la bacteria de la fagocitosis o los iones libres formados en la potabilización del agua, aumentando así su adaptación a condiciones estresantes^{16 17}.

Las especies pertenecientes al género *Pseudomonas* tienen una gran versatilidad de producir metabolitos secundarios antimicrobianos, como: sideróforos y antibióticos¹⁸, también son capaces de producir biosurfactantes que tienen diversos usos en la biorremediación¹⁹.

Los surfactantes son sustancias capaces de aumentar la dispersión en agua de sustancias hidrofóbicas en agua. Su principal característica química es la existencia de una porción polar, o hidrofílica, y una porción no polar, o hidrofóbica, que le permite formar micelas y emulsionar sustancias hidrofóbicas en medios acuosos²⁰. La mayoría de los biosurfactantes cumple un rol fundamental en la adaptación y supervivencia de los organismos que los producen, permiten la adquisición de nutrientes o el secuestro de compuestos tóxicos²¹.

Por otro lado, los sideróforos bacterianos han despertado gran interés en los últimos años, estos actúan de manera específica, como agentes quelantes para secuestrar hierro en presencia de otros metales y reducirlo a Fe^{2+} (ion ferroso), una forma biodisponible y aprovechable para la nutrición de las células²². Se ha encontrado que *P. fluorescens* puede inducir un incremento de Fe^{2+} en el interior de la planta y mejorar el desarrollo de la misma²³. Las HT-PGPR producen distintos tipos de metabolitos como los, pigmentos carotenoides, proteínas, enzimas hidrolíticas y solutos compatibles²⁴.

Por otra parte, la actividad de la enzima ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico desaminasa (ACC desaminasa) ha sido ampliamente reportada en algunas PGPR para promover el crecimiento de plantas influenciadas por el estrés ambiental, la cual les aporta dos ventajas importantes: disminuir las concentraciones de etileno en la planta e incrementar la disponibilidad de amonio en la rizosfera¹³. Al estar en un ambiente salino, las plantas incrementan su biosíntesis de etileno, lo que induce ciertos cambios característicos en la planta, como detener la elongación de la raíz e inducir la producción y elongación de raíces adventicias, acelerar la senescencia de flores, promover la abscisión de flores y frutos, finalmente, provoca la muerte de la planta²⁵, en estos caso la ACC desaminasa puede detener la senescencias celular y favorece el desarrollo de la planta por el incremento de la disponibilidad de nutrientes regulando los niveles de etileno mediante la transformación de ACC desaminasa en α -cetobutirato y amonio, metabolitos precursores para la síntesis de auxinas (fitohormonas)¹⁶.

La producción de la enzima ACC desaminasa depende de la expresión del gen *acdS* identificado en múltiples especies bacterianas tipo PGPR y dentro de estas, como se mencionó anteriormente encontramos al género *Pseudomonas*²⁶, en las cuales se ha identificado la presencia y expresión de este gen, específicamente en especies como *P. putida* y *P. fluorescens*²⁷.

Es importante destacar que el rábano (*Raphanus sativus* L.) es un cultivo de importancia económica que pertenece a la familia Brassicaceae, que también incluye al repollo, la col rizada y el brócoli, de esta planta se consume principalmente su raíz²⁸. Contiene carbohidratos, azúcares, fibras dietéticas, proteínas e incluso algo de grasa y flúor, además de diversas vitaminas hidrosolubles (B 1, B 2, B 3, B 5, B 6, B 9 y C) y minerales (calcio, hierro, magnesio, manganeso, zinc, potasio y fósforo)²⁹.

PARTE EXPERIMENTAL

Cepas

Las bacterias *Pseudomonas putida* KT2440 y *Pseudomonas* sp. EpiPf10 se utilizaron para el desarrollo de este proyecto fueron proporcionadas por el Instituto de Ciencias Microbiológicas ICUAP-BUAP; esta última fue aislada de la cactácea *Pseudomitrocereus fulviceps* en la biosfera de Tehuacán, Puebla.

Desinfección, germinación y sembrado de semillas.

Se utilizó a *Raphanus sativus* (rábano) como modelo vegetal, las semillas fueron sometidas a un proceso de desinfección, se lavaron con agua potable un total de 5 veces y una última vez con agua destilada, posteriormente se sumergieron en hipoclorito de sodio al 1.5% durante 3 minutos, pasado este tiempo se lavaron con agua destilada estéril 10 veces, finalmente se sumergieron en alcohol al 70% durante tres minutos, al terminar este tiempo se lavaron con agua destilada estéril hasta eliminar el olor del alcohol.

Para la germinación, las semillas desinfectadas fueron traspasadas a unas cajas Petri que contenían agar agua y un papel filtro previamente esterilizado en autoclave; este proceso se realizó en un ambiente estéril con mecheros bunsen. Se colocaron las cajas Petri en oscuridad y ahí se mantuvieron hasta la emergencia radicular (4 días).

Una vez emergida la parte radicular, se traspasaron a bolsas negras para vivero de 15 x 25 cm (con turba esterilizada), en cada bolsa se pusieron dos plántulas y después de 10 días se eliminó la de menor tamaño.

Las bolsas se colocaron en condiciones de invernadero, recibían luz solar durante 4 horas al día, con una temperatura mínima de 8°C y una máxima de 27°C. Las plántulas fueron regadas dos veces al día, no se utilizó ningún tipo de solución nutritiva.

Preparación del inóculo.

Los inóculos de cada cepa se prepararon de manera individual. El primer paso fue sembrar mediante la técnica de sembrado en masivo cada una de las cepas en su medio selectivo, *P. putida* KT2440 en Citrato de Simmons (CM) y *Pseudomonas* sp. EpiPf10 en Glicerol-Peptona (GP). Posteriormente, en una botella de vidrio con 50 ml de agua destilada estéril se colectó la masa celular hasta alcanzar una población de 1×10^7 UFC/ml. El co-inoculante fue preparado con 50% de cada uno de los inóculos individuales, con un volumen total de 50 ml.

Inoculación y tratamientos.

Para el experimento de promoción de crecimiento vegetal en condiciones óptimas (CO) se establecieron los siguientes tratamientos: grupo control (sin inoculación), grupo KT (inoculación con *P. putida* KT2440), grupo E.10 (inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10) y grupo KT – E.10 (co-inoculación con *P. putida* KT2440 y *Pseudomonas* sp. EpiPf10); cada tratamiento contó con 40 plantas.

A cada una de las plántulas se inoculó con 500uL del inoculante (mono-inoculación con cada cepa y co-inoculación), a los 20 días después del traspaso de las semillas germinadas a las bolsas negras para vivero. A los 20 días después de la primera inoculación se realizó una segunda inoculación.

Para el experimento de promoción de crecimiento en condiciones de estrés salino (CES) se establecieron los tratamientos antes mencionados, cada tratamiento contó con 30 plantas.

Las plántulas fueron inoculadas con 500uL del inoculante (mono-inoculación con cada cepa y co-inoculación), este proceso se hizo 20 días después del traspaso de las semillas germinadas a las bolsas negras para vivero, 24 horas después de la inoculación se añadió a cada plántula 10mL de una solución de Cloruro de Sodio (NaCl) al 75mM estéril. La solución salina se añadió de manera constante, tres veces a la semana por un mes y después del regado de la noche, 20 días después de la primera inoculación se realizó una segunda inoculación.

Cosecha y toma de datos morfométricos.

Después de dos meses (tiempo estimado de desarrollo para *R. sativus*) se dio lugar a la cosecha. Se retiraron cuidadosamente las plantas para evitar la pérdida de la raíz o de alguna hoja, se lavó para quitar el excedente de turba, luego se inició con datos morfométricos, primero se realizó el conteo de hojas, después con un triple decímetro se midió la longitud de la parte aérea y de la raíz, con una balanza analítica portátil se tomó el peso fresco de la parte aérea y del bulbo, y finalmente

con un vernier electrónico se midió el diámetro y la longitud del bulbo. Cada una de las partes de la planta se pusieron en un sobre de papel.

Para obtener el peso seco las plantas cosechadas se colocaron en un horno durante 5 días a una temperatura de 75°C durante 8 horas al día.

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza de dos vías (ANOVA de dos vías) para comparar la diferencia de medias entre los tratamientos establecidos.

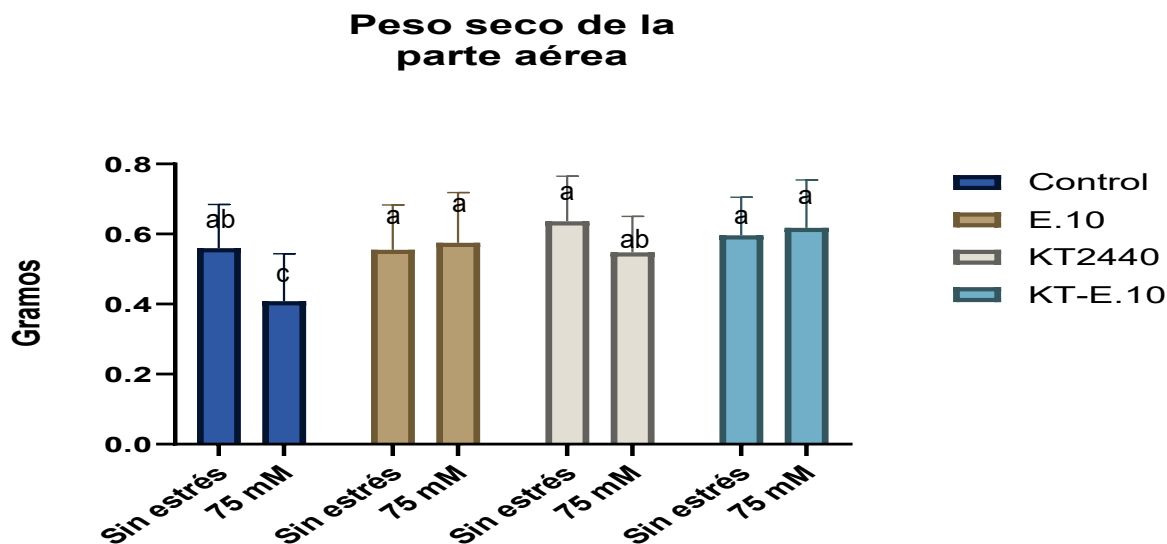
RESULTADOS

Las plantas de *R. sativus* sin estrés y con estrés salino al 75mM presentaron diferencias morfológicas evidentes (Figura 1).



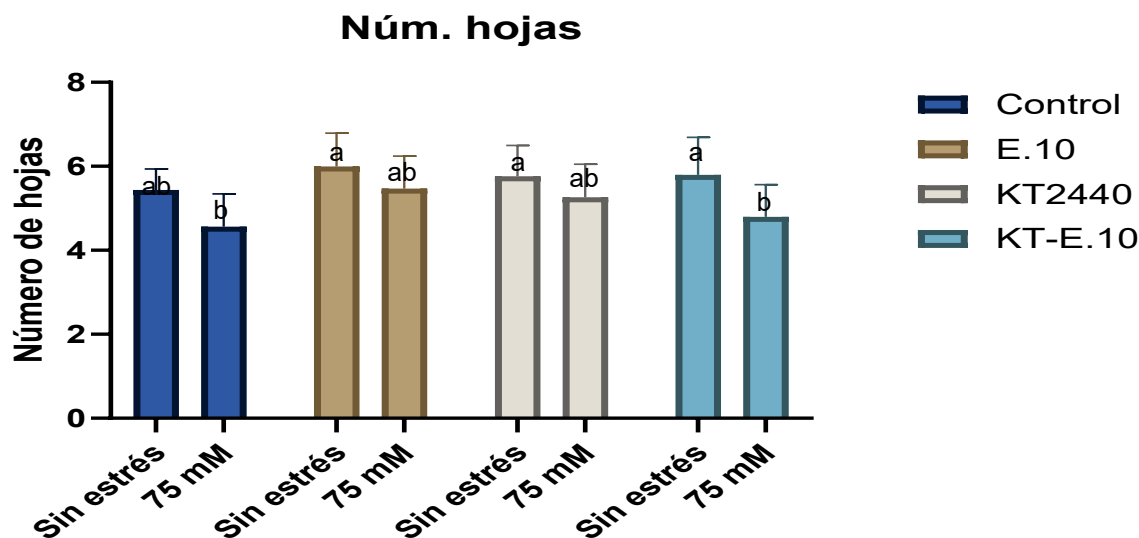
Figura 1. *Raphanus sativus* en diferentes condiciones de crecimiento. a) Inoculación de *R. sativus* en condiciones sin estrés. Tratamientos Control: Sin inoculación; KT2440: *P. putida* KT2440; E.10: *Pseudomonas* sp. EpiPf 10 y KT-E.10: Co-inoculación. b) Inoculación de *R. sativus* en condiciones de estrés salino (75 mM NaCl). Tratamientos Control: Sin inoculación; KT2440: *P. putida* KT2440; E.10: *Pseudomonas* sp. EpiPf 10 y KT-E.10: Co-inoculación.

Las plantas de *R. sativus* cosechadas (60 días de crecimiento) del experimento en condiciones de estrés salino (CES) presentaron un mayor peso seco de la parte aérea lo presentó en el tratamiento *P. putida* KT2440, seguido de la co-inoculación y la inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10 y el tratamiento control sin diferencias estadísticamente significativas, y en condiciones óptimas (CO) se observó una tendencia similar, la co-inoculación registró el mayor peso seco de la parte aérea, seguida de *P. putida* KT2440 y la co-inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10, que superaron al control con diferencia estadísticamente significativa (Grafica 1).



Grafica 1. Media del peso seco de la parte aérea presente en *R. sativus* sin estrés y con estrés al 75mM. Control: Sin inoculación; E.10: inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10; KT2440: inoculación con *P. putida* KT2440 y KT-E.10: Co-inoculación. Medias que no comparten una letra son estadísticamente significativos

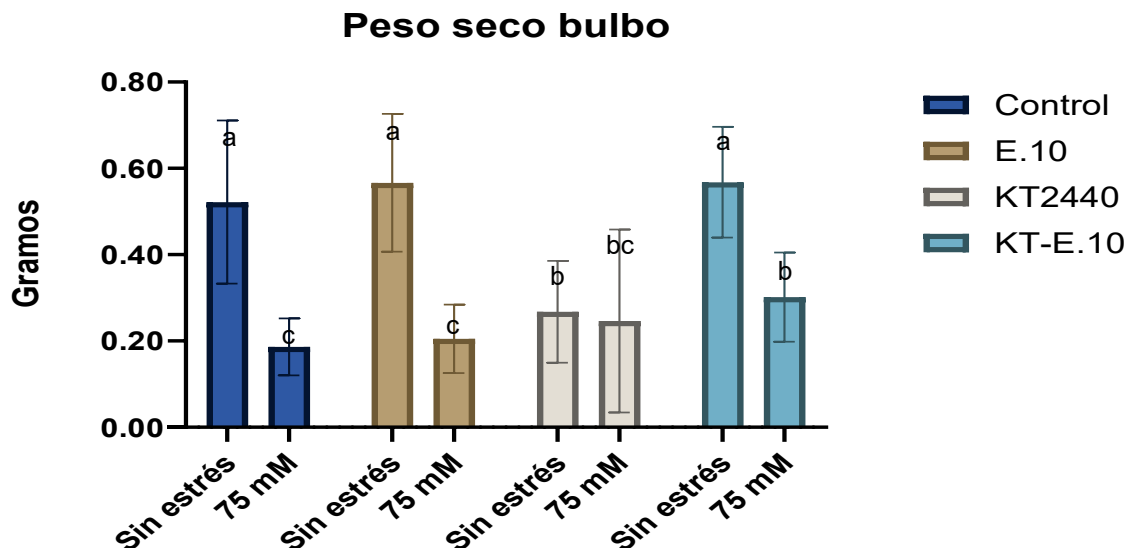
Por otro lado, en CO se registró un mayor número de hojas en el tratamiento inoculado con *Pseudomonas* sp. EpiPf10, seguido de la inoculación con *P. putida* KT2440 y la co-inoculación respecto al control no hay diferencias estadísticas, esta tendencia fue similar para CES, registrando un mayor número de hojas en los tratamientos con mono-inoculado y co-inoculación y presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto al control, sin embargo, el número de hojas fue menor en CES respecto a CO (**Grafica 2**).



Grafica 2. Media del número de hojas presentes en *R. sativus* sin estrés y con estrés al 75mM. Control: Sin inoculación; E.10: inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10; KT2440: inoculación con *P. putida* KT2440 y KT-E.10: Co-inoculación. Medias que no comparten una letra son estadísticamente significativos

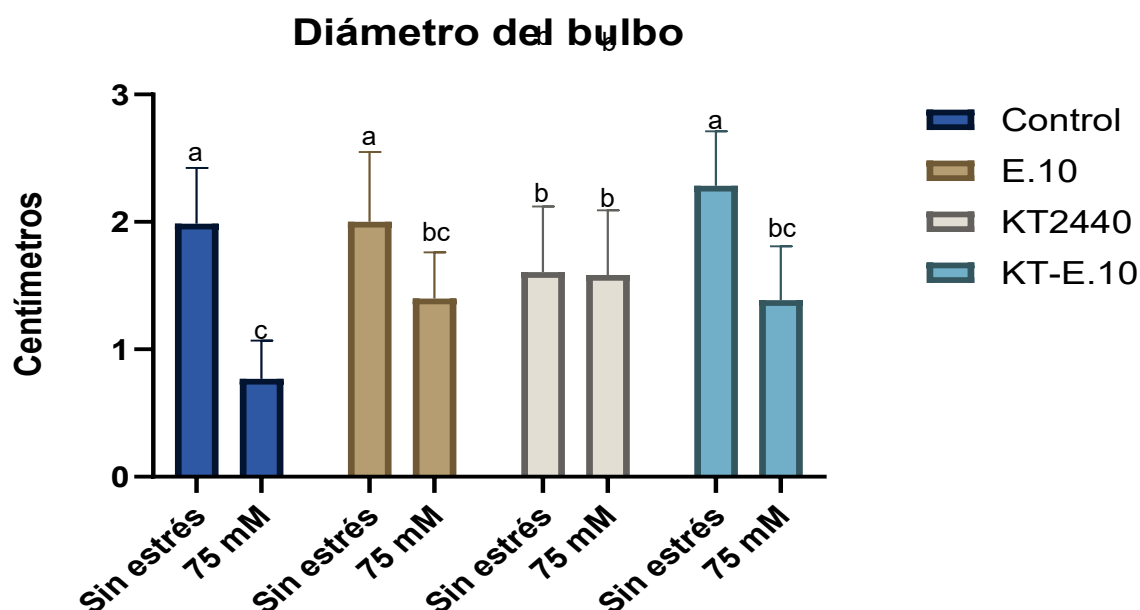
Para el peso seco del bulbo en CO se registró un mayor peso en el tratamiento co-inoculación seguido del inoculado con *Pseudomonas* sp. EpiPf 10 y el control, el tratamiento inoculado con *P. putida* KT2440 registró el menor peso seco del bulbo con diferencias estadísticamente significativas, para CES se registró un peso seco del bulbo similar entre los tratamientos co-inoculación y la

inoculación con *P. putida* KT2440, y los menores parámetros los presentaron *Pseudomonas* sp. EpiPf 10 y el control con diferencias estadísticamente significativas. Se registró una disminución importante del peso seco del bulbo en CES respecto a CO (**Grafica 3**).



Grafica 3. Media del peso seco del bulbo presente en *R. sativus* sin estrés y con estrés al 75mM. Control: Sin inoculación; E.10: inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10; KT2440: inoculación con *P. putida* KT2440 y KT-E.10: Co-inoculación. Medias que no comparten una letra son estadísticamente significativas

Finalmente, en CES se registró un mayor diámetro del bulbo en el tratamiento inoculado con *P. putida* KT2440, seguido de la co-inoculación y con *Pseudomonas* sp. EpiPf10 respecto al control y presentó diferencia estadísticamente significativa, en CO se registró un mayor diámetro del bulbo en el tratamiento co-inoculación, seguido de la inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10 y el control, el menor diámetro lo presentó la inoculación con *P. putida* KT2440 con diferencia estadísticamente significativa, este tratamiento tuvo un diámetro del bulbo similar en CES y CO (**Grafica 4**).



Grafica 4. Media del diámetro del bulbo presente en *R. sativus* sin estrés y con estrés al 75mM. Control: Sin inoculación; E.10: inoculación con *Pseudomonas* sp. EpiPf10; KT2440: inoculación con

P. putida KT2440 y KT-E.10: Co-inoculación. Medias que no comparten una letra son estadísticamente significativos.

CONCLUSIÓN

La co-inoculación y la mono-inoculación de las cepas *P. putida* KT2440 y *Pseudomonas* sp. EpiPf10 en las plantas de rábano promueven el crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés salino, lo que las perfila como candidatas idóneas para aplicarse como HT-PGPR, convirtiéndose en una alternativa biotecnológica para contrarrestar los efectos nocivos del estrés salino en plantas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C., & Wang, P. (2021). Regulation of Plant Responses to Salt Stress. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4609. <https://doi.org/10.3390/ijms22094609>
2. Egamberdieva, D., Jabborova, D., & Hashem, A. (2015). *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*) and resistance to *Fusarium* root rot through the modulation of indole-3-acetic acid. *Saudi journal of biological sciences*, 22(6), 773–779. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.04.019>
3. van Zelm, E., Zhang, Y., & Testerink, C. (2020). Salt Tolerance Mechanisms of Plants. *Annual review of plant biology*, 71, 403–433. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100005>
4. Singh, R.L. (2017). Introduction to Environmental Biotechnology. In: Singh, R. (eds) Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1866-4_1
5. Rodríguez Aristizabal, Mónica Alejandra, Higuera Mora, Nubia Carolina, & Sanjuanelo Corredor, Danny Wilson. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67(3), 621-632. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i3.32942>
6. Sunita, K., Mishra, I., Mishra, J., Prakash, J., & Arora, N. K. (2020). Secondary Metabolites From Halotolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Ameliorating Salinity Stress in Plants. *Frontiers in microbiology*, 11, 567768. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.567768>
7. Zou Y., Zhang Y., & Testerink C. (2022). Root dynamic growth strategies in response to salinity. *Plant Cell Environ.*
8. Singh Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S. D., Mishra, J., & Arora, N. K. (2019). Salt-Tolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Enhancing Crop Productivity of Saline Soils. *Frontiers in microbiology*, 10, 2791. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02791>
9. Bacilio, M., Rodriguez, H., Moreno, M., Hernandez, J. and Bashan, Y. (2004). Mitigation of salt stress in wheat seedlings by a *Azospirillum lipoferum*. *Biology and Fertility of Soils* 40:188-193
10. Glick B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, 169(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
11. Ramírez, M., Piña, Y., Ordoñez, L., Bracho, B. y García, D. (2014). Efecto del NaCl en plántulas de curarí (*Tabebuia serratifolia*) en condiciones de laboratorio. *Pastos y Forrajes* 37(1):17-23.
12. Rodríguez Aristizabal, Mónica Alejandra, Higuera Mora, Nubia Carolina, & Sanjuanelo Corredor, Danny Wilson. (2019). Bacterias halófilas con potencial para la recuperación de suelos salinizados en Sáchica-Boyacá, Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 67 (3), 621-632. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i3.32942>
13. Tank, N. and Saraf, M. (2010). Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. *Journal of Plant Interactions*. 5(1):51-58

14. Esquivel-Cote, Rosalba, Gavilanes-Ruiz, Marina, Cruz-Ortega, Rocío, & Huante, Pilar. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista fitotecnica mexicana*, 36(3), 251-258. Recuperado en 16 de mayo de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018773802013000300010&lng=es&tlng=es
15. Weimer, A., Kohlstedt, M., Volke, D. C., Nikel, P. I., & Wittmann, C. (2020). Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida*: advances and prospects. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(18), 7745–7766. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10811-9>
16. Willey .J, Sherwood & Woolverton C.J. (2013). Prescott's Microbiology. ISBN: 978-0073402406
17. Salazar, I & Blanco, H. (2004). Indicadores bacterianos no habituales de la calidad de agua en piscinas. Venezuela. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, San Juan, 22-27.
18. Rojas, J., Pérez A., Martínez, J., Míles J. (2012). Actividad antibacteriana de extracto de hojas de *Melia azedarach* L. *Revista Colombiana. Biotecnología*. XIV (1):224-232
19. Aguirre-Noyola J. L., Romero-Ramírez Y., Ruvalcaba-Ledezma J.C., Forero-Forero A. V., León-Rodríguez R., & Toribio-Jiménez J. (2020). Biosurfactants produced by metal-resistant *pseudomonas aeruginosa* isolated from zea mays rhizosphere and compost
20. Barrionuevo, M.R. (2017). Producción de biosurfactantes bacterianos para su uso en procesos de biotratamiento de efluentes industriales con contenido en metales. [Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires]
21. Daverey, A. and Pakshirajan, K. (2011). Recent advances in bioremediation of contaminated soil and water using microbial surfactants. In Ahmad, I., Ahmad, F. and Pichtel, J. (eds.) *Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications*. Springer, New York. pp. 207–228
22. Aguado-Santacruz, Gerardo A., Moreno-Gómez, Blanca, Jiménez-Francisco, Betzaida, García-Moya, Edmundo, & Preciado-Ortiz, Ricardo E.. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnica mexicana*, 35(1), 9-21. Recuperado en 05 de junio de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100004&lng=es&tlng=es.
23. Pérez Álvarez, Sandra, Coto Arbelo, Orlando, Echemendía Pérez, Mayra, & Ávila Quezada, Graciela. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno?: *Pseudomonas fluorescens*, biological control or pathogen?. *Revista de Protección Vegetal*, 30(3), 225-234. Recuperado en 05 de junio de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000300008&lng=es&tlng=es.
24. Corral P., Amoozegar M.A., & Ventosa A. (2019). Halophiles and Their Biomolecules: Recent Advances and Future Applications in Biomedicine.
25. Des Marais D.L & Juenger, T.L. (2010) Pleiotropy, plasticity, and the evolution of plant abiotic stress tolerance.
26. Fan D., Schwinghamer T., & Smith DL. (2018) Isolation and diversity of culturable rhizobacteria associated with economically important crops and un cultivated plants in Québec, Canada. *Syst Appl Microbiol*.
27. Belimov A.A., Safronova V.I., Sergeyeva T.A., Egorova T.N., Matveyeva V.A., & Tsyganov V.E. (2001). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase.
28. Seo M.-S., Chung J.-H., Park B.-S., Kim J.S. (2018). Analysis of Sugars Content by Genotypes in 82 Radish (*Raphanus sativus* L.) *Korean J. Plant*
29. Khattak K.F. (2011). Nutrient composition, phenolic content and free radical scavenging activity of some uncommon vegetables of Pakistan. *Pak. J. Pharm*.

EFFECTO DEL CLORURO DE CALCIO, ÁCIDO SALICÍLICO Y QUITOSANO SOBRE LA RESISTENCIA AL GORGOJO (*ZABROTES SUBFASCIATUS*) EN FRIJOL PINTO SALTILLO

Joel de Jesús Barba-Franco¹, Miguel Angel Ramos-López², Jorge Alberto Acosta-Gallegos³, Sofía Loza-Cornejo¹, Rosalía Reynoso-Camacho² y Xochitl Aparicio-Fernández¹

¹Universidad de Guadalajara; CULagos, ²Universidad Autónoma de Querétaro, ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias; INIFAP Campus Celaya
jbarba151292@gmail.com

RESUMEN

El frijol es un grano básico en la dieta de América Central y el Caribe; siendo el segundo cultivo con mayor producción a nivel mundial después del maíz. Sin embargo, las pérdidas económicas debidas a los insectos que atacan el grano almacenado en Centroamérica son del 20%, en México el gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) es una de las plagas más importantes. Para su eliminación se utilizan productos químicos que ocasionan problemas a la salud. Por lo tanto, surge la necesidad de buscar alternativas para generar resistencia de los granos a estos insectos, dichos métodos deben ser inocuos y económicos para que sean viables en su aplicación. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la aplicación por aspersión de ácido salicílico (AS), quitosano (Q) y cloruro de calcio (Ca^{2+}) en frijol Pinto Saltillo sobre la resistencia al gorgojo *Z. subfasciatus*. Se realizó un diseño experimental factorial donde los tratamientos fueron ácido salicílico (AS) a 0.5, 1.0 y 2.0 mM, quitosano (Q) a 1.0, 2.0 y 3.0 μM y cloruro de calcio (Ca^{2+}) 0.5, 1.0 y 2.0 % como control solo se aplicó agua destilada (C). Se colocaron 50 semillas de frijol Pinto Saltillo en frascos de vidrio y se asperjaron con 1 mL de la solución del elicitador; posteriormente se incorporaron 5 parejas de insectos con menos de 48 h de emergencia. Para evaluar el daño ocasionado por los insectos se cuantificó la mortalidad de machos (MM) y hembras (MH), oviposición total (OT) y por hembra (OH), número de orificios (NO), porcentaje de granos dañados (%D), emergencia de machos (EM) y hembras (EH), pérdida de peso y, finalmente, se evaluó la germinación de los frijoles. Los resultados fueron expresados como la media $\pm$ desviación estándar ($n=5$) y las diferencias fueron analizadas por la prueba de Dunnett. Los resultados mostraron que los machos sobrevivieron 13 ± 1 días en el grupo control y los tratamientos de Ca^{2+} y AS fueron similares al testigo. Mientras que en el tratamiento Q 3 μM el valor fue de 9 ± 1 días. Las hembras, en el grupo control presentaron una sobrevivencia de 13 ± 1 días, y todas las concentraciones de Q y Ca^{2+} disminuyeron tres días el ciclo de vida. El tratamiento Ca^{2+} 2.0 % mostró mayor efecto sobre la resistencia del frijol a *Z. subfasciatus*, con 10 % menos de daño (%D), 24% menos de emergencia de insectos y 7% más de germinación en el grano expuesto al insecto. El cloruro de calcio al 2.0 % redujo ligeramente el daño ocasionado por *Z. subfasciatus* en el frijol durante el almacenamiento. Es necesario repetir el estudio con este último compuesto para confirmar el efecto observado.

INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria es un desafío global, afectada por la escasez de alimentos y la disminución del área de terrenos agrícolas, aunado a la reciente reducción en la producción de granos y cereales, destaca la urgencia de implementar estrategias sostenibles para aumentar la producción de alimentos. En este contexto, el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una legumbre considerada fundamental en la dieta de habitantes pobladores de América Central, México y el Caribe. Es reconocido como el segundo grano con mayor producción a nivel mundial debido a sus propiedades nutrimentales y nutraceuticas. Sin embargo, en algunas regiones la producción se ha visto reducida por el daño causado por los insectos que dañan los cultivos y semillas, y la baja productividad en algunas regiones del país a causa de fertilidad del suelo, estrés en las plantas y cambio climático. Esto reduce la rentabilidad de los cultivos y aumenta considerablemente los costos de producción. Además, se estima que plagas como *Z. subfasciatus* dañan aproximadamente el 30 % de los granos en almacenamiento, a causa de la infestación directa sobre los granos de frijol.

Lo anterior ha generado la necesidad de implementar estrategias para mitigar esta problemática. Para ello se han propuesto herramientas como la aplicación de sustancias químicas, la cual resulta ineficaz para los pequeños productores, debido a que los costos la vuelven inaccesible y los potenciales problemas de toxicidad de algunos insecticidas hacen que resulten poco aceptadas por algunos agricultores y consumidores; por lo tanto, opciones que resulten respetuosas con el medio ambiente, económicas y eficaces contra las plagas, son una alternativa sostenible e importante. Entre dichas opciones se encuentran sustancias como el quitosano, ácido salicílico y cloruro de calcio, las cuales podrían ser estrategias para combatir al gorgojo del frijol *Z. subfasciatus*. No obstante, se requiere evaluar la eficacia de estas sustancias.

TEORÍA

Importancia del frijol

El frijol común *P. vulgaris* es uno de los principales cultivos a nivel mundial. Según la FAO, en 2022 se produjeron 27,545,942 toneladas de esta leguminosa en 129 países, siendo la India el principal productor (20.3% del total), seguido de Myanmar (17.4%), Brasil (9.7%) y Estados Unidos (5.2%). México ocupa el séptimo lugar con 1.18 millones de toneladas al año, mostrando un crecimiento en la producción del 4.6% y en el consumo del 4.9% entre 2000 y 2019 (CEDRSSA, 2020). Se estima que la superficie mundial cosechada de frijol alcanza los 36 millones de hectáreas, con un aumento en la superficie y la producción global (FAO, 2022).

Además, el frijol es una semilla básica en la dieta humana a nivel mundial debido a su aporte nutricional. Este forma parte de la dieta base de múltiples culturas debido a que es una fuente importante de proteínas, carbohidratos, fibra dietética, vitaminas, minerales y fitoquímicos (Graham & Ranalli, 1997; Ulloa *et al.*, 2011).

En México, el frijol es el segundo grano de mayor consumo después del maíz (Sangerman-Jarquín *et al.*, 2010). Por lo tanto, esta planta es de gran importancia, tanto en términos de superficie cultivada como de producción. El plan de desarrollo agrícola del gobierno mexicano identifica 29 regiones estratégicas donde se cultiva el frijol, abarcando una variedad de sistemas y ambientes agrícolas. Además, el plan agrícola nacional 2017-2030 busca incrementar la producción de frijol de 1.08 a 2.38 millones de toneladas, lo que representa un aumento del 118% con el objetivo de aprovechar su valor nutricional y económico (CEDRSSA, 2020).

Pérdidas en cultivos de frijol

Cada año los cultivos de frijol enfrentan pérdidas durante su crecimiento debido a diversos factores como las fluctuaciones de temperatura, la sequía, las inundaciones y la incidencia de enfermedades y plagas (Singh & Schwartz, 2010). Por ejemplo, en México se estima que se pierden más de 99 mil hectáreas de siembras de frijol en promedio durante los últimos años generando rendimientos de siembra de 0.67 Ton/ha. Esta bajo nivel de rendimiento puede atribuirse a diversas problemáticas, incluyendo la fertilidad del suelo, los cuidados por parte de los agricultores y la presencia de plagas. Aproximadamente el 30% de la producción de frijol destinada al almacenamiento se pierde cada año debido a estas plagas, las cuales utilizan las semillas como fuente de alimento (Villegas-Coronado *et al.*, 2022).

Plagas en el cultivo de frijol

Se estima que las plagas presentes en los cultivos de frijol causan pérdidas superiores al 35% en la producción potencial de frijol en Centroamérica. Estas plagas están asociadas a cada una de las etapas fenológicas de la planta, por ejemplo, gallina ciega y gusano alambre en la germinación, ácaros, trips, mosca blanca entre otras durante las etapas vegetativas y reproductivas (Ramos-de Oliveira *et al.*, 2018). Además, aproximadamente el 20-30% del frijol almacenado se pierde en post-cosecha debido a los daños causados por gorgojos como *Z. subfasciatus* y *Acanthocelides obtectus* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Villegas-Coronado *et al.*, 2022).

Zabrotes subfasciatus

El daño ocasionado por *Zabrotes subfasciatus* en los granos de frijol incluye la reducción de calidad y valor comercial debido a la alimentación de las larvas en el interior de las semillas. Esto conlleva a pérdida de peso, germinación reducida y contaminación del producto con excrementos y restos de insectos, lo que deteriora la calidad y aumenta el riesgo de infecciones fúngicas, resultando en decrementos significativos en la producción (Tigist, 2020; Rădac *et al.*, 2022).

La hembra de *Z. subfasciatus* es capaz de ovipositar un promedio de 35 huevos, los cuales pasan a fase larvaria en 5 días y logran completar el ciclo (huevo, larva, pupa y adulto) en aproximadamente 33 días, el cual vuelve a comenzar con la oviposición de la nueva generación, haciendo que el daño ocasionado a granos infestados por este insecto sea relativamente grande (Tigist, 2020).

Manejo de plagas en el almacenamiento de granos

Los agricultores han adquirido varios conocimientos tradicionales heredados de ancestros indígenas para proteger los granos almacenados del daño de los insectos. Dentro de las recomendaciones para la prevención de daño de insectos a granos almacenados se encuentran el utilizar espacios limpios, libres de humedad, usar recipientes cerrados que no permitan el contacto con la plaga. Además, hay controles químicos como el uso de fosfinas en forma de fosfuro de aluminio o fosfuro de magnesio (INTAGRI, 2024). Por otro lado, el uso de partes de plantas o extractos de plantas como insecticidas naturales también suele emplearse de manera muy común (Dales, 1996). En este sentido, es importante evaluar alternativas seguras y económicas para prevenir el daño de insectos como *Z. subfasciatus* en granos como el frijol Pinto Saltillo, y con ello disminuir el daño a estos granos.

El ácido salicílico es considerado una fitohormona vegetal que forma parte del grupo de compuestos fenólicos. Su papel principal o más conocido es como activador de la resistencia sistémica adquirida (RSA), que tiene un papel imprescindible en la defensa de la planta ante patógenos. Por otro lado, se ha reportado que el ácido salicílico puede afectar el comportamiento y la alimentación de los insectos, lo que podría ayudar a proteger las plantas y los cultivos contra las infestaciones de diversos herbívoros y patógenos (Filgueiras *et al.*, 2019). Sin embargo, existe escasa evidencia del efecto del uso exógeno de ácido salicílico y su eficacia en la defensa de granos en almacenamiento cuanto es aplicado de manera exógena, además, puede variar dependiendo de diversos factores, como la concentración del compuesto, el método de aplicación y las condiciones ambientales.

Otra opción para disminuir la presencia de plagas es el quitosano. Este compuesto es un polisacárido que se obtiene de la desacetilación parcial de la quitina y es un copolímero lineal formado por unidades de glucosamina y en menor medida de N-acetil D-glucosamina unidos por enlaces β 1-4 (Sato *et al.*, 1998). El quitosano derivado de la quitina es un prometedor elicitador agrícola que activa las defensas de las plantas. Este es biodegradable y no tóxico, es una alternativa sostenible, por eso, se ha utilizado quitosano como mecanismo de defensa ante insectos. Por ejemplo, la aplicación de encapsulados de micro-quitosano en soya *Glycine max* (Fabaceae), disminuyó la oviposición por hembra en un 86 % y un 73 % el porcentaje de emergencia de la especie *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Chrysomelidae). También, la aplicación de los encapsulados de micro-quitosano disminuyó la oviposición por hembra en un 75 % y un 72 % el porcentaje de emergencia de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Sahab *et al.*, 2015).

Finalmente, el cloruro de calcio al utilizarse para el control de plagas funciona absorbiendo la humedad del ambiente, lo que puede crear condiciones desfavorables para la supervivencia de los insectos y reducir la proliferación de hongos y bacterias que podrían degradar los granos de frijol (Majumder & Bano, 1964). Sin embargo, es importante tener en cuenta que el cloruro de calcio ha sido poco estudiado en granos en almacenamiento, aunque se sabe que puede mejorar parámetros como el contenido de humedad y esto es una condición favorable en la defensa a insectos en la preservación de semillas como el frijol. Además, se ha reportado que sales similares como fosfato de calcio en concentración de 2 y 3 % redujo la población de insectos de *Tribolium castaneum* en avena y sorgo hasta un 69 y 66 % respectivamente (Majumder & Bano, 1964).

Debido a la necesidad de garantizar la conservación adecuada de los granos en almacenamiento y el creciente interés de estrategias amigables con el medio ambiente, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la aplicación por aspersión de ácido salicílico (AS), quitosano (Q) y cloruro de calcio (Ca^{2+}) en frijol Pinto Saltillo sobre la resistencia al gorgojo *Z. subfasciatus*.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

El frijol Pinto Saltillo fue comprado en un mercado local en Lagos de Moreno, Jalisco y se colocó en refrigeración para eliminar la posibilidad de infestación previa de insectos de acuerdo a lo mencionado por Rodríguez-Hernández & López-Pérez (2001).

Los gorgojos *Z. subfasciatus* fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales (INIFAP), campus Celaya. Para multiplicar los insectos, se utilizaron frascos de plástico de 0.5 L, previamente esterilizados a una temperatura de 28 ± 1 °C y con una humedad relativa mayor al 45 %. En estos frascos se colocaron 300 individuos de gorgojo junto con semillas de cada cultivar de frijol sin daño (Armenta-López *et al.*, 2021; Bautista-Sosa *et al.*, 2021), y se caracterizó el ciclo de vida del gorgojo.

Pruebas de resistencia

Para cada tratamiento (5 repeticiones) se colocaron 50 semillas de frijol Pinto Saltillo seleccionadas al azar y se asperjaron con soluciones de ácido salicílico (AS) a 0.5, 1.0 y 2.0 mM, quitosano (Q) a 1.0, 2.0 y 3.0 µM y cloruro de calcio (Ca^{2+}) 0.5, 1.0 y 2.0 %; como control se aplicó agua destilada (C). Se incluyeron 5 machos y 5 hembras (5 parejas) con menos de 48 horas de emergencia, y se mantuvieron a 28 ± 1 °C, humedad relativa superior al 45 % y fotoperiodo 12/12 luz/oscuridad.

Mortalidad de los insectos

Se cuantificaron los insectos muertos en cada tratamiento los días posteriores a la infestación hasta observar la mortalidad de todos los insectos de cada frasco (Rodríguez-González *et al.*, 2019).

Oviposición

Para determinar esta variable se contó el número de huevos ovipositados en la testa de cada semilla de frijol, el conteo se realizó 15 días después de la infestación, asegurando que todos los insectos usados para infestar estuvieran muertos.

Oviposición por hembra de *Zabrotes subfasciatus* (OPH)

Esta variable se midió dividiendo el número total de huevos ovipositados en la testa del frijol entre el número total de hembras utilizadas en la infestación (ecuación 1).

$$OPH = \frac{THO_t}{TH_t} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

OPH: Oviposición por hembra

THO_t: Total de huevos ovipositados en el tratamiento

TH_t: Total de hembras en el tratamiento

Total de adultos emergidos

Se realizó el recuento del número de adultos emergidos por tratamiento (Armenta-López *et al.*, 2021). Se cuantificaron los insectos vivos y muertos, así como la porción de hembras y machos de acuerdo con las ecuaciones 2 y 3, respectivamente.

$$PHE = \left(\frac{THE_t}{TAE_t} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 2}$$

$$PME = \left(\frac{TME_t}{TAE_t} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde:

PHE: Porción de hembras emergida

THE_t: Total de hembras emergidas

TAE_t: Total de adultos emergidos

PME: Porción de machos emergidos

TME_t: Total de machos emergidos

Porcentaje de fertilidad de la oviposición (PFO)

Se calculó la fertilidad del total de los huevos ovipositados comparado con el total de emergencia de adultos, según la ecuación 4:

$$PFO = \left(\frac{TAE_t}{TO_t} \right) * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

PFO: Porcentaje de fertilidad de oviposición

TAE_t: Total de adultos emergidos en el tratamiento

TO_t: Total de huevos en el tratamiento

Porcentaje de semilla dañada (PSD)

Esta variable fue determinada al día 80, cuantificando el número de semillas perforadas y el número de semillas sin daños visibles en cada uno de los tratamientos; y se cuantificó el PSD utilizando la ecuación 5 (Nava-Pérez *et al.*, 2010).

$$PSD = \frac{TSD}{TS} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

PSD: Porcentaje de semilla dañada.

TSD: Número de semillas perforadas.

TS: Total de semillas.

Pérdida de peso de la semilla (PPS)

El porcentaje PPS se determinó con la estimación del peso inicial (día cero) y el peso final (día 80) de cada semilla (Armenta-López *et al.*, 2021). Los cálculos del PPS (%) se llevaron a cabo mediante la ecuación 6:

$$PPS (\%) = 100 - \frac{PF}{PI} * 100 \quad \text{Ecuación 6}$$

Donde:

PF: Peso final

PI: Peso inicial

Pérdida de la capacidad germinativa (PCG).

La PCG se estimó colocando 20 semillas de cada tratamiento en cajas Petri con papel adsorbente. Se adicionaron 10 mL de agua a las cajas Petri y se dejaron germinar bajo condiciones controladas; a una temperatura de 27 ± 2 °C y a un fotoperiodo de 12 horas luz /12 horas oscuridad por un período de 8 días. Se cuantificó cada 24 horas el número de nuevos brotes de radícula y se consideró como semillas germinadas las que presentaron una radícula ≥ 3 mm; y se calcularon los porcentajes de germinación (PG) de acuerdo con la ecuación 8 (Armenta-López *et al.*, 2021).

$$PG (\%) = \frac{\text{Numero de brotes en } T_x}{\text{Total de semillas en } T_x} \quad \text{Ecuación 7}$$

Donde:

T_x: Tratamiento "x" del cual se está calculando el PG (%).

Análisis estadístico

Cada análisis se realizó por triplicado y los resultados se expresaron con la media estadística y su respectiva desviación estándar. Los datos obtenidos en cada prueba se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y la significancia de la diferencia de medias se determinaron mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$) usando el software estadístico Minitab versión 18.1.

RESULTADOS

El ciclo de vida de los insectos de *Z. subfasciatus* fue caracterizado al colocar cinco parejas de insectos en frijol libre insectos. Se encontró que el ciclo de vida promedio desde la oviposición hasta la muerte de los adultos fue 39 ± 3 días, donde el periodo conjunto de oviposición, larva y pupa fue de 26 ± 2 días, mientras que los insectos como adultos vivieron 13 ± 2 días desde la emergencia dentro del grano hasta la muerte del insecto (Fig. 1).

Clase: *Insecta*
Orden: *Coleoptera*
Suborden: *Polyphaga*
Superfamilia: *Chrysomeloidea*
Familia: *Bruchidae*
Género: *Zabrotes*
Especie: *subfasciatus*

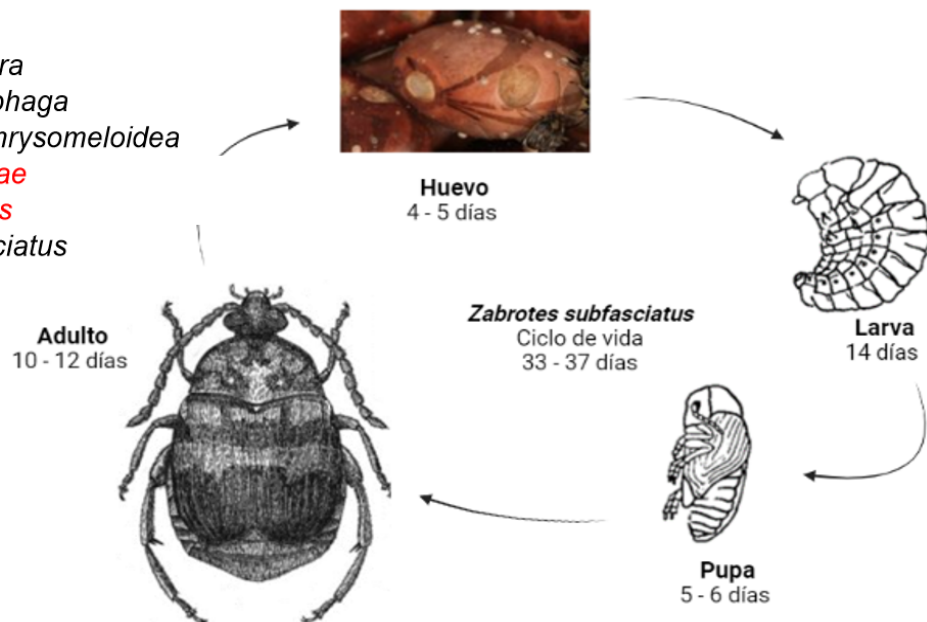


Fig. 1. Ciclo de vida del gorgojo del frijol (*Z. subfasciatus*) con una duración promedio de 33 a 37 días. Se detalla la clasificación taxonómica del insecto (Gonzalez *et al.*, 1984)

Se ha reportado que los huevos permanecen en este estado durante 4 a 5 días antes de pasar por 26 días como larva, distribuidos en 4 estadios larvarios y luego de 5 a 6 días como pupa. Finalmente, el adulto vive aproximadamente de 10 a 12 días, lo que completa un ciclo de vida que dura alrededor de 30 a 33 días (Tigist, 2020).

Por su parte, la identificación de los insectos se realizó mediante los dimorfismos sexuales, siendo característica la longitud de los machos de 2 mm y estos presentan pubescencia de color negro en forma de bandas finas en los élitros. Por otro lado, las hembras son de forma redonda y de color negro con manchas claras; una debajo del pronoto y otra sobre cada élitro; la hembra es más ancha, y suele pesar de 1.5 a 2 veces más que el macho y su longitud es de 3 mm (Bonet *et al.*, 2005).

Los resultados mostraron un tiempo máximo de vida de 13 días de los machos y hembras de *Z. subfasciatus* crecidos en el frijol de grupo control. Por su parte, los tratamientos de AS 1.0 y 2.0 mM y Q 3 μ M disminuyeron 31% (4 días) el tiempo de vida de las hembras comparado con el control (Fig. 3a). Además, los tratamientos AS 0.5, 1.0 y 2.0 mM y Q 3 μ M, redujeron 8% (1 día) la supervivencia máxima de los machos (Fig. 3b). A pesar de que la literatura se ha recomendado una humedad relativa con valores mayores a 60% el tiempo de vida del control tuvo un tiempo máximo de vida similar a los reportado por Tigist (2020) con 13 días de etapa adulta, mientras que González *et al.* (1984) reportó una duración de la fase adulta para hembras y machos de 12 y 13 días, respectivamente. Los tratamientos que afectaron negativamente el tiempo de vida del insecto posiblemente generaron un efecto de antibiosis ya que tuvieron una afectación directa en el ciclo de vida.

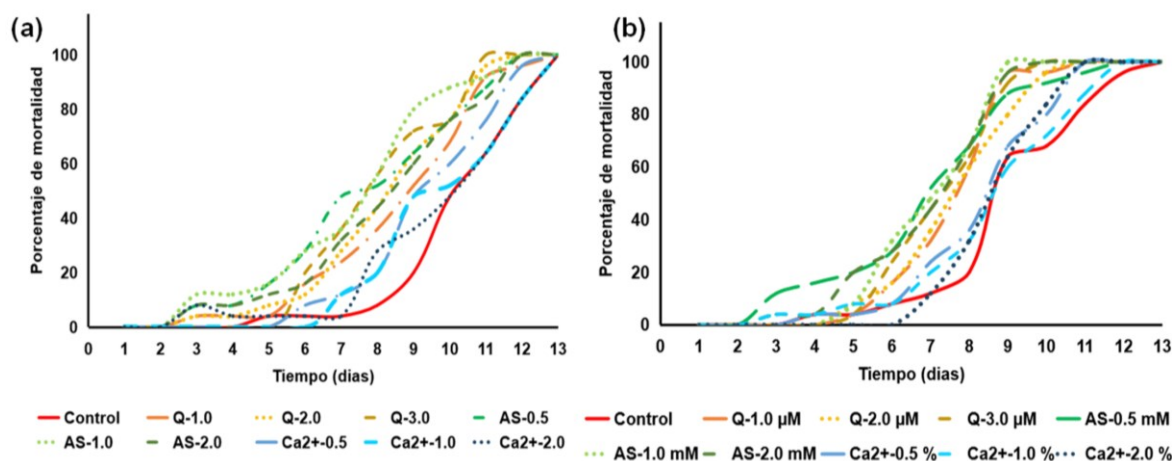


Fig. 3. Porcentaje de mortalidad de hembras (a) y machos (b) de *Z. subfasciatus*. Los datos son presentados como media $\pm$ desviación estándar (n=5).

La emergencia de machos (Fig. 4a) y hembras (Fig. 4b) de *Z. subfasciatus* en el control fue de 42.0 ± 20.4 y 50.4 ± 22.4 , respectivamente. Se observa que no hay diferencias significativas en la emergencia de insectos por sexo, lo cual es consistente con estudios previos que indican que la emergencia debe ser proporcional o cercana al 50% para cada sexo (Moreira, 1994).

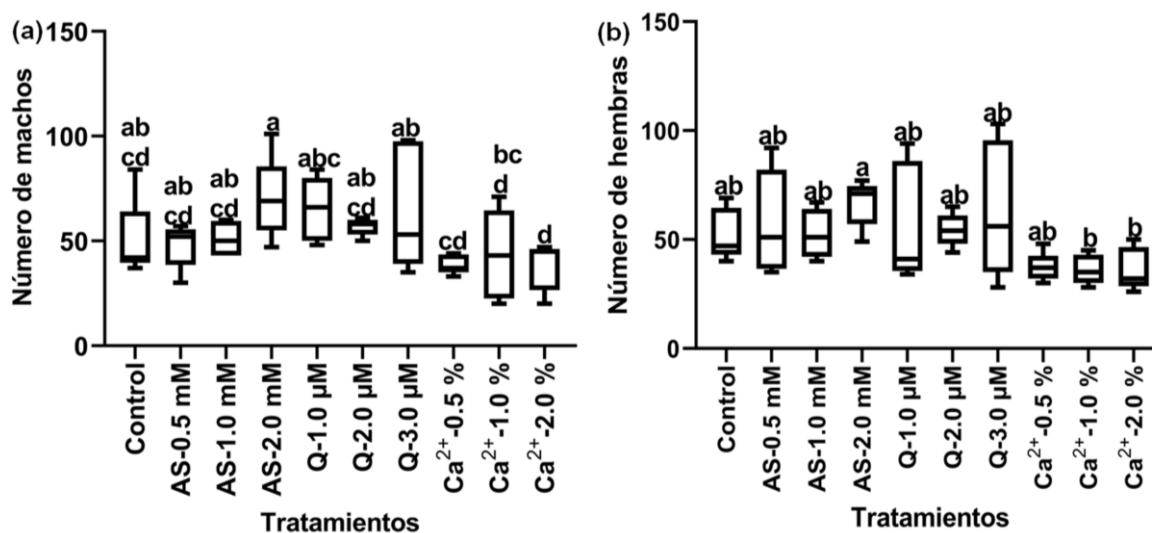


Fig. 3. Número de machos (a) y hembras (b) de *Z. subfasciatus* emergidos en granos de frijol tratado con AS, Q y Ca²⁺. Los datos son presentados media $\pm$ desviación estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencia estadística significativa mediante la prueba de Tukey (p < 0.05)

Además, aunque ningún tratamiento mostró una disminución significativa en la emergencia de insectos, el tratamiento con Ca²⁺ presentó una reducción numérica. Específicamente, la concentración de Ca²⁺ al 2.0% registró 38.8 ± 11.0 hembras, lo que representa una disminución del 25% (Fig. 4b). Dado que las hembras son las que ovipositan, esta reducción podría tener un impacto significativo en generaciones futuras. Es importante destacar que en un mismo ciclo de cultivo pueden surgir varias generaciones del insecto, y aunque este estudio se centró en evaluar el daño directo de una generación de estos insectos, las reducciones en la emergencia de hembras podrían tener repercusiones importantes a largo plazo.

Los orificios causados por *Z. subfasciatus* en los granos de frijol resultan en una apariencia desfavorable, lo que los hace poco deseables para el consumo. Este deterioro directamente impacta en la ganancia económica de los productores de frijol, por lo que es crucial buscar formas de prevenir este daño. Para evaluar esto, se midió el porcentaje de granos dañados (%D), considerando como dañados aquellos que presentaban al menos un orificio.

En la primera generación, el control mostró un %D de $69.20 \pm 4.15\%$, cuando la proporción era de 1 hembra del insecto por cada 10 granos. Sin embargo, el tratamiento con Ca^{2+} 2.0% exhibió un %D menor con un valor de $59.20 \pm 8.20\%$, aunque no mostró diferencias significativas respecto al control. Esto representa una reducción numérica del 15% en la presencia de orificios en comparación con el control. Por otro lado, los demás tratamientos no tuvieron efectos significativos sobre el porcentaje %D, mostrando valores muy similares al control. Incluso los tratamientos Q mostraron valores numéricamente más altos que el control.

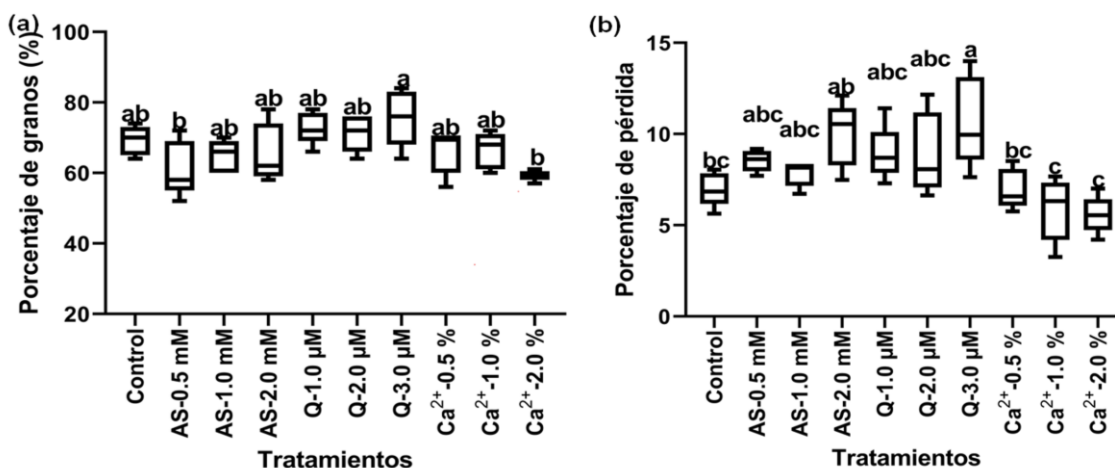


Fig. 4. Porcentaje de granos dañados (a) y pérdida de peso porcentual (b) ocasionada por *Z. subfasciatus* en granos de frijol tratado con AS, Q y Ca^{2+} . Los datos son presentados media $\pm$ desviación estándar ($n=5$). Letras diferentes indican diferencia estadística significativa mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

El número de orificios causados por los *Z. subfasciatus* en los granos de frijol es un indicativo del nivel de daño físico y pérdida de características de calidad debido al ataque del insecto. Estos orificios son el resultado de la alimentación de las larvas dentro de los granos y pueden variar en tamaño y cantidad dependiendo de la severidad de la infestación.

Los resultados mostraron que el grupo control causó un número de orificios de 100.2 ± 20.7 en promedio por cada 50 semillas con 5 parejas de insectos. Esto significa que cada pareja causó aproximadamente 20 orificios por semilla, resultando en un $67.7 \pm 8.3\%$ de fertilidad de los huevecillos ovipositados. Los tratamientos con cloruro de calcio en todas las concentraciones (Ca^{2+} al 0.5%, 1.0%, y 2.0%) disminuyeron en un 12%, 11%, y 16%, respectivamente. Aunque no existieron diferencias significativas. Por otro lado, los tratamientos con AS y Q no mostraron control en ninguna de las concentraciones evaluadas, e incluso numéricamente hubo un aumento en el número de orificios en las semillas tratadas con dichas sustancias, aunque no hubo diferencia estadística significativa.

El porcentaje de fertilidad de los huevecillos (PFO) disminuyó en un 31% cuando las semillas de frijol fueron tratadas con Ca^{2+} al 2.0%. Es importante resaltar que todos los tratamientos con cloruro de calcio mostraron una tendencia a disminuir el PFO de los huevecillos del insecto. Esto podría asociarse también con un menor número de orificios en el grano y por lo tanto, una menor pérdida de peso en los mismos tratamientos (Tabla 1).

La infestación de los granos de frijol por *Z. subfasciatus* no solo causa daños físicos directos, como la generación de orificios en los granos, sino que también puede resultar en la pérdida de la

capacidad germinativa de las semillas, disminuyendo el porcentaje de germinación con gran cantidad de daño en el endospermo de la semilla. Lo anterior atribuido a que cuando los insectos infestan los granos se alimentan del interior de la semilla, lo cual puede comprometer la integridad de esta. Los daños causados por *Z. subfasciatus* pueden debilitar la viabilidad de las semillas al dañar los tejidos internos y alterar el equilibrio hormonal necesario para la germinación. Además, la presencia de insectos puede introducir patógenos secundarios que afectan aún más la salud de la semilla y su capacidad para brotar. Esto tiene consecuencias negativas para los agricultores, ya que las semillas que no germinan adecuadamente resultan en una menor densidad de cultivo y, por lo tanto, un menor rendimiento de este (Tigist, 2020; Rădac, *et al.*, 2022).

Tabla 1. Número de orificios (NO) y porcentaje de fertilidad de la oviposición (PFO)

Tratamiento	NO	PFO
Control	100.2 ± 20.7a	67.7 ± 8.3abc
AS 0.5 mM	107.6 ± 19.4a	79.6 ± 15.6ab
AS 1.0 mM	103.6 ± 22.3a	80.0 ± 13.7ab
AS 2.0 mM	112.8 ± 27.1a	87.1 ± 8.1a
Q 1.0 µM	129.3 ± 23.4a	87.3 ± 11.2a
Q 2.0 µM	111.2 ± 25.4a	76.7 ± 15.1a
Q 3.0 µM	133.4 ± 29.5a	96.7 ± 1.2a
Ca ²⁺ 0.5 %	78.2 ± 7.9a	53.3 ± 7.6bc
Ca ²⁺ 1.0 %	79.6 ± 18.4a	53.6 ± 9.9bc
Ca ²⁺ 2.0 %	74.4 ± 19.9a	47.0 ± 10.1c

Los datos representan la media ± desviación estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencia estadística significativa mediante la prueba de Tukey (p< 0.05).

Debido a lo anterior, se determinó la capacidad de germinación de las semillas de frijol expuestas a un ciclo de infestación por *Z. subfasciatus*, donde se observó un 56.00 ± 4.15% de porcentaje de germinación en las semillas control expuestas al insecto. Esto representa un bajo porcentaje germinativo. El tratamiento con mayor porcentaje de germinación fue Ca²⁺ 2.0% con 63.00 ± 5.70%, aunque no existieron diferencias significativas, el mismo comportamiento fue mostrado para los otros tratamientos. Esto podría estar relacionado a que el %D en las semillas de todos los tratamientos fue similar.

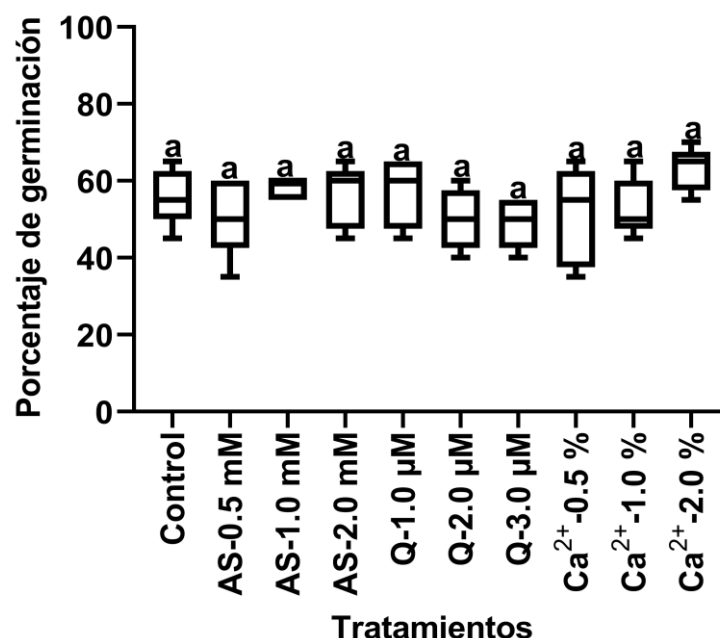


Fig. 5. Porcentaje de germinación de semillas de frijol Pinto tratadas con AS, Q y Ca²⁺ y expuestas a *Z. subfasciatus*. Los datos representan la media $\pm$ desviación estándar (n=5). Letras diferentes indican diferencia estadística significativa mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

El ciclo de vida de *Z. subfasciatus* se caracterizó por un tiempo promedio desde la oviposición hasta la muerte de los adultos de aproximadamente 39 ± 3 días. Los tratamientos con cloruro de calcio, especialmente 2.0% mostraron cierto potencial para reducir el tiempo de vida de los insectos, especialmente de las hembras y la fertilidad de los huevecillos ovipositados, lo que podría tener implicaciones en la reproducción y generaciones futuras. Aunque algunos tratamientos mostraron cierta reducción en el daño físico causado por los insectos, se necesita más investigación para determinar la concentración y forma de aplicación para tener una forma efectiva para el control de *Z. subfasciatus*.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Armenta-López AR, Lugo-García GA, Sánchez-Soto BH, Romero-Félix CS, Cortez-Mondaca E & Nava-Pérez E (2021). Bean resistance to the attack of the brown weevil *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae) in the North of Sinaloa, Acta Zoológica Mexicana, 37, 1-18. <https://doi.org/10.21829/azm.2021.3712427>
- [2] Bautista-Sosa, N., Góngora-Gamboa, C., Chan-Canché, R., Ballina-Gómez, H., González-Mendoza, D., & Sánchez, E. R. (2021). Effect of dried plant powder in the mexican bean weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman) and its damage to stored lima bean (*Phaseolus lunatus* L. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(2), 1-7. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3498>
- [3] CEDRSSA, Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y para la Soberanía Alimentaria, (2020), Mercado del Frijol, situación y prospectiva, Palacio Legislativo de San Lázaro, Ciudad de México. <http://201.147.98.23/Ver/Documento/3438>

- [4] Dales MJ (1996). A Review of Plant Materials Used for Controlling Insect Pests of Stored Products. NRI. Bulletin (United Kingdom).- Natural Resources Institute Bulletin (United Kingdom)
- [5] FAO (a), 2022. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Food Outlook, Roma, Italia. Disponible en: <https://doi.org/10.4060/cb9427en>
- [6] Filgueiras, C. C., Martins, A. D., Pereira, R. V., & Willett, D. S. (2019). The ecology of salicylic acid signaling primary, secondary and tertiary effects with applications in agriculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), 5851.
- [7] González, M., Roche, R., & Simanca, M. E. (1984). Ciclo de vida de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae), plaga de granos almacenados. *Ciencias de la Agricultura*, (21).
- [8] Graham, P. H., & Ranalli, P. (1997). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 53(1-3), 131-146.
- [9] INTAGRI S.C. Instituto para la Innovación Tecnológica en la Agricultura, Manual de plagas en granos almacenados. <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/manual-plagas-granos-almacenados> Consultado el: 27/05/2024
- [10] Kamfwa, K., Beaver, J. S., Cichy, K. A., & Kelly, J. D. (2018). QTL mapping of resistance to bean weevil in common bean. *Crop Science*, 58(6), 2370-2378.
- [11] Majumder, S. K., & Bano, A. (1964). Toxicity of calcium phosphate to some pests of stored grain. *Nature*, 202(4939), 1359-1360.
- [12] Moreira, V. (1994). *Ciclo de vida de Zabrotes subfasciatus* (Boheman) en genotipos locales de Frijol común en Honduras (Doctoral dissertation, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano)
- [13] Nava-Pérez, E., Hurtado, P. G., Báez, J. R. C., Torres, B. V., Ruiz, C. R. B., & Herrera-Flores, R. (2010). Utilización de extractos de plantas para el control de gorgojo pardo *Acanthoscelides obtectus* (Say) en frijol almacenado. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 6(1), 37-44.
- [14] Rădac, I. A., Rădac, I., & Șerban, C. (2022). Detection of *Zabrotes subfasciatus* and *Bruchidius glycyrrhizae* (Chrysomelidae: Bruchinae) in Romania. *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, 65(1), 71-81. doi: 10.3897/travaux.65.e81595
- [15] Ramos-de Oliveira M, da Silva-Bonome LT, von Hertwig-Bittencourt H, Zarowni E & da Silva Lefchak (2018). Alternative treatments in bean seeds for repelling *Acanthoscelides obtectus* (SAY), *Journal of Seed Science*, 40(4), 362-369. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n4192099>
- [16] Rodríguez-González, Á., Álvarez-García, S., González-López, Ó., Da Silva, F., & Casquero, P. A. (2019). Insecticidal properties of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon winterianus* against *Acanthoscelides obtectus*, insect pest of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Insects*, 10(5), 151. <https://doi.org/10.3390/insects10050151>
- [17] Rodríguez-Hernández, C. & López Pérez, E. (2001). Actividad insecticida e insectistática de la chilca (*Senecio salignus*) sobre *Zabrotes subfasciatus*., Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 59 p . 1 9 - 2 6
- [18] Sahab, A. F., Waly, A. I., Sabbour, M. M., & Nawar, L. S. (2015). Synthesis, antifungal and insecticidal potential of Chitosan (CS)-g-poly (acrylic acid) (PAA) nanoparticles against some seed borne fungi and insects of soybean. *Int. J. ChemTech Res*, 8(2), 589-598.
- [19] Sahab, A. F., Waly, A.I., Sabbour, M. M. & Lubna S. N. (2015). Synthesis, antifungal and insecticidal potential of Chitosan (CS)-g-poly (acrylic acid) (PAA) nanoparticles against some seed borne fungi and insects of soybean. *International Journal of ChemTech Research*. Vol.8, No.2, pp 589-598.
- [20] Sangerman-Jarquín, D. M., Acosta-Gallego, J. A., Schwenstesius de Rindermann, R., Damián Huato, M. Á., & Larqué Saavedra, B. S. (2010). Consideraciones e importancia social en torno al cultivo del frijol en el centro de México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1(3), 363-380.
- [21] Sato, H., Mizutani, S. & Tsuge, S. 1998. Determination of the degree of acetylation of chitin/chitosan by pyrolysis-Gas chromatography in the presence of oxalic acid. *Analytical Chemistry* 70: 7-12.
- [22] Singh, S. P., & Schwartz, H. F. (2010). Breeding common bean for resistance to diseases: a review. *Crop Science*, 50(6), 2199-2223. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.03.0163>

- [23] Tigist, S. G. (2020). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the bean bruchid (*Zabrotes subfasciatus*): A Review. International Journal of Research in Agriculture and Forestry, 7(11), 21-31. ISSN 2394-5907 (Print) & ISSN 2394-5915 (Online)
- [24] Ulloa, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez Ramírez, J. C., & Ulloa Rangel, B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. CONACYT.
- [25] Villegas-Coronado, D., Guzman-Partida, A. M., Aispuro-Hernández, E., Vázquez-Moreno, L., Huerta-Ocampo, J. Á., Sarabia-Sainz, J. A. I., ... & Lagarda-Diaz, I. (2022). Characterization and expression of prohibitin during the mexican bean weevil (*Zabrotes subfasciatus*, Boheman, 1833) larvae development. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 262, 110770.

NEODIMIO EN EL CRECIMIENTO DE LECHUGA CV. STARFIGHTER EN SISTEMA HIDROPONICO

Imelda Rueda-López^{1*}, María Guadalupe Peralta-Sánchez¹,
Fernando C. Gómez-Merino², Libia I. Trejo-Téllez¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología, Texcoco, Estado de México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Fisiología Vegetal, Texcoco, Estado de México.
arueda.3001@gmail.com

RESUMEN

La bioestimulación es una nueva tecnología agrícola que involucra el uso de sustancias y microorganismos benéficos para promover crecimiento, desarrollo, producción, calidad y mecanismos de defensa o tolerancia a factores de estrés abiótico. Existen diversas categorías de bioestimulantes que pueden ser de origen biológico o sintético, y de naturaleza orgánica o inorgánica. Entre los bioestimulantes inorgánicos, el neodimio (Nd) es un elemento benéfico que ha mostrado efectos positivos en diversos cultivos, relacionados con la promoción del crecimiento, la nutrición y el metabolismo. En este estudio se evaluaron cuatro dosis de Nd (0, 20, 40 y 60 μ M), adicionadas a la solución nutritiva empleada en la nutrición de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cv. Starfighter establecida en un sistema hidropónico de raíz flotante. Los tratamientos iniciaron en plantas de 50 d y tuvieron una duración de 48 d. En la cosecha se evaluaron las variables de crecimiento: biomasa fresca de vástago, de raíz y de planta completa, además del área foliar. Con los resultados obtenidos se hizo análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$) con el software SAS. El tratamiento con 60 μ M Nd acumuló mayor biomasa fresca de vástago que el testigo en 93.5%. De la misma manera, esta dosis ocasionó mayor peso fresco de raíz que el testigo en 70.6%. Lo anterior ocasiona un incremento de 88.2% en la biomasa fresca de la planta completa. Por otro lado, las dosis 40 y 60 μ M Nd incrementaron el área foliar en 48.2 y 78.8%, respectivamente, en comparación con el testigo. Las respuestas estimulantes del Nd en el crecimiento y la producción de biomasa pueden estar relacionadas con la capacidad de los lantánidos para promover la síntesis de fitohormonas como el ácido indolacético (IAA), que promueven la elongación y la división celular. Estos resultados permiten concluir que el Nd en las dosis 40 y 60 μ M promueve el crecimiento y la acumulación de biomasa en lechuga crecida en hidroponía.

INTRODUCCIÓN

El cambio climático global tiene efectos negativos en la producción de alimentos, los cuales se manifiesta en la pérdida progresiva de tierras agrícolas, disminución del rendimiento y la calidad de los cultivos (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2019). El sector agrícola enfrenta desafíos interrelacionados, como el incremento en la productividad para alimentar a una población creciente, haciendo un uso eficiente de los recursos naturales; por tanto, se requieren enfoques innovadores y sostenibles para abordarlos de manera efectiva (Rouphael y Colla, 2020).

La bioestimulación es una nueva tecnología agrícola que involucra el uso de sustancias y microorganismos benéficos para promover mejores respuestas de las plantas en cuanto a indicadores de crecimiento, desarrollo, producción, calidad y mecanismos de defensa o tolerancia a factores de estrés abiótico (Sible *et al.*, 2021). Los bioestimulantes reducen el uso de las aplicaciones de fertilizantes químicos y pueden considerarse como alternativas ecológicas, debido a su impacto mínimo en el medio ambiente (Vasseur-Coronado *et al.*, 2021). Existen diversas categorías de bioestimulantes que pueden ser de origen biológico o sintético, y de naturaleza orgánica o inorgánica (Gupta *et al.*, 2021). Dentro de los bioestimulantes inorgánicos, el neodimio (Nd) es un elemento benéfico que ha mostrado efectos positivos en diversos cultivos, relacionados con la promoción del crecimiento, la nutrición y el metabolismo (Ramírez-Antonio *et al.*, 2023). Bajas concentraciones de Nd mitigan los efectos negativos de la toxicidad por cadmio (Cd) al optimizar las actividades de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y peroxidasa (POD) en alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) (Tang *et al.*, 2017). Asimismo, el Nd prolonga la vida

de florero de lirio blanco (*Lilium*), al mejorar la capacidad de retención de agua de los pétalos (Zheng y Guo, 2019). Además, el Nd estimula la germinación de semillas de trigo (*Triticum aestivum*) (Basu *et al.*, 2016), promueve el crecimiento de plántulas de arroz (*Oryza sativa*) (Shi *et al.*, 2021) y aumenta la longitud de raíz de bulbos de cebolla (*Allium cepa*) (Kotelnikova *et al.*, 2022).

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de distintas concentraciones de Nd en biomásas frescas de vástago y de raíz, y el área foliar de plantas de lechuga cv. Starfighter.

TEORÍA

Bioestimulantes vegetales

Los bioestimulantes ofrecen un enfoque potencialmente novedoso para estimular el crecimiento, mitigar los efectos negativos inducidos por el estrés y aumentar el rendimiento. En los sistemas de producción los bioestimulantes se están integrando con el objetivo de modificar los procesos fisiológicos en las plantas para optimizar la productividad (Yakhin *et al.*, 2017). La definición de bioestimulante más ampliamente aceptada indica que “es cualquier sustancia o microorganismo aplicado a las plantas con el objetivo de mejorar la eficiencia nutricional, la tolerancia al estrés abiótico y/o los rasgos de calidad del cultivo, independientemente de su contenido de nutrientes” (du Jardin, 2015). Actualmente se aceptan siete categorías de bioestimulantes: ácidos húmicos y fúlvicos; hidrolizados de proteínas y compuestos nitrogenados; extractos de algas y plantas superiores; quitosano y otros biopolímeros; compuestos inorgánicos; hongos benéficos; y bacterias benéficas (du Jardin, 2015). Dentro de los bioestimulantes inorgánicos son importantes los elementos benéficos, entre ellos el Nd (Ayub *et al.*, 2023).

Elementos benéficos

Los elementos benéficos tienen la característica de promover el crecimiento de las plantas; sin embargo, no se consideran esenciales, pero, bajo ciertas condiciones pueden ser necesarios en algunas especies de plantas. Los principales elementos benéficos son el aluminio (Al), selenio (Se), silicio (Si), cobalto (Co) y sodio (Na) (Pilon Smits *et al.*, 2009). En las plantas superiores se ha demostrado que pueden detonar respuestas positivas en indicadores de crecimiento, desarrollo, vida de florero, rendimiento, calidad de las cosechas, así mismo estimulan respuestas adaptativas ante fenómenos adversos como la sequía y salinidad. Para obtener estas respuestas positivas, las dosis suministradas deben ser concentraciones muy bajas, a nivel micro o milimolar en soluciones aplicadas de forma foliar o a la raíz en sistemas hidropónicos; así también en las soluciones de florero en especies ornamentales. (Gómez-Merino *et al.*, 2015).

Neodimio

El Nd es un metal maleable, dúctil y gran conductor de electricidad, estas propiedades han permitido su aplicación en varios segmentos industriales de alta tecnología (Wahyudi, 2015). El papel del Nd en la agricultura se ha demostrado en diversas investigaciones (Ayub *et al.*, 2023). Los estudios realizados con este elemento son limitadas. A pesar de la escasa información, se ha informado que el Nd, estimula la tasa de germinación, el crecimiento de plantas y el contenido de clorofilas *a* y *b* (Zhang *et al.*, 2013). También, promueve la biomasa vegetal y el desarrollo de raíces, incrementa la calidad y el rendimiento de los cultivos (Abou El-Nour y Attia, 2022).

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación

El experimento se realizó en un invernadero perteneciente al Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, localizado a 2250 m de altitud, 19° 30' 45" latitud norte y 98° 52' 47" longitud oeste, en Montecillo, Estado de México, México.

Almácigo

Semillas de lechuga cv. Starfighter se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades que contenían turba (PRO-MIX FLX, Canadá) como sustrato. Se colocó una semilla en cada alveolo a una profundidad de 5 mm. Las charolas se regaron con agua potable cada dos días, y fueron monitoreadas para tener un control de su crecimiento.

Condiciones del experimento

Plántulas de 40 d se colocaron en un sistema hidropónico de raíz flotante, en contenedores de plástico (Cubasa, 1566 TSS, México) de 900 mL de capacidad. Para proporcionar oxígeno a la raíz se instalaron bombas (Elite, HA800, China) y manguera de polietileno con un diámetro de 4 mm, conectadas a un temporizador digital (Stereon, TEMP-08E, México) de ocho eventos, programado cada 3 h con tiempos de oxigenación de 15 min. La nutrición se suministró con la solución nutritiva Universal Steiner (Steiner, 1984), durante los primeros 10 d a una concentración de 50%, posteriormente y hasta la cosecha se aportó al 100%.

Diseño experimental y tratamientos

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Se evaluaron cuatro concentraciones de Nd (0, 20, 40 y 60 μM), a partir de la fuente $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, USA). La unidad experimental fue una planta establecida en el sistema de raíz flotante en el contenedor antes descrito. Los tratamientos se suministraron a través de la solución nutritiva Universal Steiner, iniciaron en plantas de 50 d y se renovaron cada 10 d, el agua consumida se repuso cada 3 d. El pH de la solución se ajustó a 5.5 usando H_2SO_4 1 N.

Variables evaluadas

Al finalizar la cosecha se realizaron las siguientes determinaciones. La biomasa fresca se calculó pesando por separado el vástago y raíz de cada planta en una balanza analítica (Adventurer Ohaus Pro, AV213C; Parsippany, NJ, EE. UU.). El área foliar se determinó con un integrador de área foliar (LI-COR-3000A; Lincoln, NE, EE. UU.).

Análisis de datos

Los datos se evaluaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el software estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute, 2009) versión 9.4.

RESULTADOS

Los elementos de las tierras raras (ETR) incluido el Nd aumentan la biomasa vegetal al estimular los procesos fotosintéticos y la absorción de nutrimentos (de Oliveira *et al.*, 2015; Kovaříková *et al.*, 2019). En plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) cultivadas hidropónicamente, los tratamientos 100 y 150 μM Nd incrementaron las biomásas frescas de tallos, hojas y raíces (Ramírez-Antonio *et al.*, 2023). Resultados similares se encontraron en esta investigación, el tratamiento con 60 μM Nd acumuló mayor biomasa fresca de vástago que el testigo en 93.5%. De la misma manera, esta dosis ocasionó mayor peso fresco de raíz que el testigo en 70.6%. Lo anterior ocasionó un incremento de 88.2% en la biomasa fresca de la planta completa (**Figura 1**).

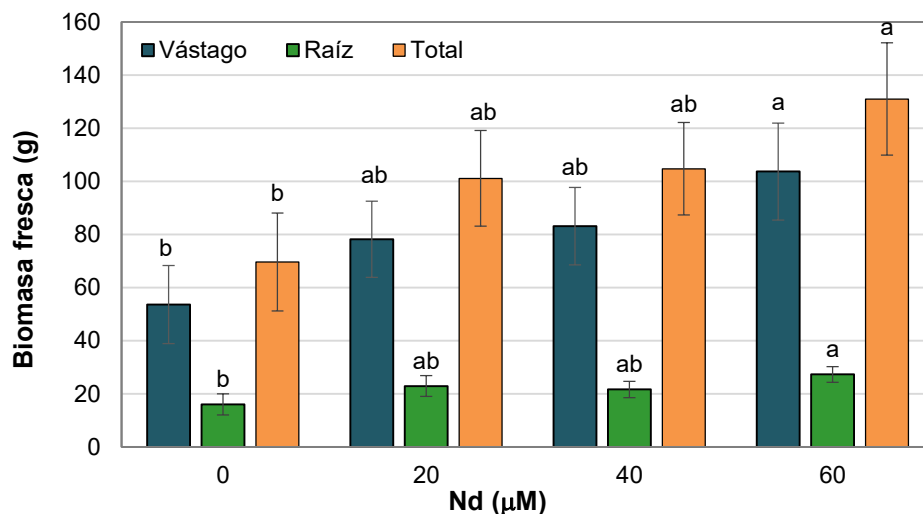


Figura 1. Biomosas frescas de vástago, raíz y total de plantas lechuga cv. Starfighter tratada con diferentes dosis de Nd. Medias $\pm$ DE en cada órgano con letras distintas, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Por su parte, las dosis 40 y 60 μM Nd incrementaron el área foliar en 48.2 y 78.8%, respectivamente, en comparación con el testigo (**Figura 2**). En pimiento (*Capsicum annuum*), la aspersión foliar con 3.4 μM Nd incrementó el área foliar mejorando significativamente el crecimiento de las plantas (Abou El-Nour y Attia, 2022). Las respuestas estimulantes del Nd en el crecimiento y la producción de biomasa pueden estar relacionadas con la capacidad de los lantánidos para promover la síntesis de fitohormonas como el ácido indolacético (IAA), que promueven la elongación y la división celular.

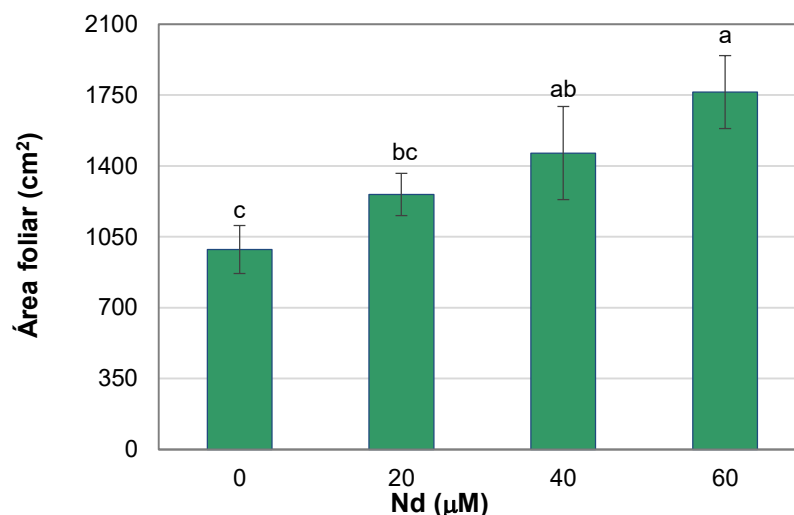


Figura 2. Área foliar de plantas lechuga cv. Starfighter tratada con diferentes dosis de Nd. Medias $\pm$ DE con letras distintas, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación permiten concluir que la aplicación de Nd en las dosis 40 y 60 μM incrementó la acumulación de biomasa y el área foliar de las plantas de lechuga cv. Starfighter crecidas en hidroponía; por tanto, el Nd tiene un efecto bioestimulante en el crecimiento vegetal.

BIBLIOGRAFÍA

1. B. Hawrylak-Nowak, M. Hasanuzzaman, M. Wójcik, "Biostimulation and biofortification of crop plants-new challenges for modern agricultura", *Acta Agrobotanica*, Vol. 72, 2, 1777, 2019. <https://doi.org/10.5586/aa.1777>
2. Y. Rouphael, G. Colla, "Biostimulants in agricultura", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 11, 511937, 2020. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
3. C. N. Sible, J. R. Seebauer, F. E. Below, "Plant Biostimulants: a categorical review, their implications for row crop production, and relation to soil health indicators", *Agronomy*, Vol. 11, 7, 1297, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071297>
4. M. Vasseur-Coronado, H. D. du Boulois, I. Pertot, G. Puopolo, "Selection of plant growth promoting rhizobacteria sharing suitable features to be commercially developed as biostimulant products", *Microbiological Research*, Vol. 245, 126672, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126672>
5. S. Gupta, M. G. Kulkarni, J. F. White, W. A. Stirk, H. B. Papenfus, K. Doležal, V. Ördög, J. Norrie, A. T. Critchley, J. van Staden, "Categories of various plant biostimulants – mode of application and shelf-life". In S. Gupta, J. van Staden (eds.), *Biostimulants for Crops from Seed Germination to Plant Development*. Academic Press, 2021, pp. 1–60. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823048-0.00018-6>
6. V. H. Ramírez-Antonio, L. I. Trejo-Téllez, F. C. Gómez-Merino, J. V. Hidalgo-Contreras, "Neodymium stimulates growth, nutrient concentration, and metabolism in sugarcane in hydroponics", *Sugar Tech*, Vol. 25, 2023, pp. 1385–1395. <https://doi.org/10.1007/s12355-023-01283-y>
7. Z. Tang, W. Li, S. H. Wen, R. H. Ren, Z. Liu, S. Qin, "Interference of neodymium with the antioxidative defense mechanisms of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) seedlings grown under cadmium stress", *International Journal of Agriculture & Biology*, Vol. 19, 4, 2017, pp. 906–910. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0421>
8. M. Zheng, Y. Guo, "Effects of neodymium on the vase life and physiological characteristics of *Lilium* Casa Blanca petals", *Scientia Horticulturae*, Vol. 256, 108553, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108553>
9. A. Basu, S. S. Kar, S. S. Panda, N. K. Dhal, "Bioaccumulation of neodymium oxide (REE) and its effects on the growth and physiological changes of wheat and rice seedlings: a hydroponics study under plant growth chamber", *e-Planet*, Vol. 14, 2, 2016, pp. 33–40.
10. K. Shi, C. Liu, D. Liu, K. Lyu, J. Chen, X. Wang, "The accumulation and effect of rare earth element neodymium on the root of rice seedlings", *Environmental Science and Pollution Research*, Vol. 28, 35, 2021, pp. 48656–48665. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14072-2>
11. A. Kotelnikova, O. Rogova, D. S. Volkov, "Toxicity assessment update for soil spiked with lanthanides (La, Ce, and Nd): results for chernozem", *Journal of Soils and Sediments*, Vol. 22, 4, 2022, pp. 1188–1200. <https://doi.org/10.1007/s11368-022-03147-6>
12. O. I. Yakhin, A. A. Lubyano, I. A. Yakhin, P. H. Brown, "Biostimulants in plant science: a global perspective", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 7, 2049, 2017. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>
13. P. du Jardin, "Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation", *Scientia Horticulturae*, Vol. 30, 196, 2015, pp. 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
14. M. A. Ayub, M. Abbas, M. Z. Rehman, "Role of inorganic bio stimulant elements in plant growth. In: T. Aftab, K. R. Hakeem. (eds.), *Sustainable Plant Nutrition*. Academic Press, 2023, pp. 229–261. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18675-2.00014-6>
15. E. A. Pilon-Smits, C. F. Quinn, W. Tapken, M. Malagoli, M. Schiavon, "Physiological functions of beneficial elements", *Current Opinion Plant Biology*, Vol. 12, 3, 2009, pp. 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.009>
16. F. C. Gómez-Merino, L. I. Trejo-Téllez, C. Cuacua-Temiz, M. A. Jácome-Chacón, H. Sentfies-Herrera, "Los elementos benéficos: potencial para innovar la producción agrícola" *Agroentorno*, Vol. 166, 2015, pp. 19–20.

17. C. Zhang, Q. Li, M. Zhang, N. Zhang, M. Li, "Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants", *Acta Pharmaceutica Sinica B*, Vol. 3, 1, 2013, pp. 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2012.12.0>
18. H. H. Abou El-Nour, R. M. Attia, "Evaluate the effects of rare earth elements on sweet pepper seeds germination process, seedlings growth and plants productivity", *GSC Advanced Research and Reviews*, Vol. 13, 1, 2022, pp. 023–038. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2022.13.1.0250>
19. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th International Congress on Soilless Culture", Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633–650.
20. SAS Institute Inc., *SAS/STAT Software: Changes and Enhancements*, Release 6.10, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2009.
21. de Oliveira, S. J. Ramos, J. O. Siqueira, V. Faquin, E. M. de Castro, D. C. Amaral, V. H. Techio, L. C. Coelho, P. H. e Silva, E. Schnug, L. R. Guilherme, "Bioaccumulation and effects of lanthanum on growth and mitotic index in soybean plants", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 122, 2015, pp. 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.020>
22. M. Kovaříková, I. Tomášková, P. Soudek, "Rare earth elements in plants", *Biologia Plantarum*, Vol. 63, 1, 2019, pp. 20–32. <https://doi.org/10.32615/bp.2019.003>

HIDROPONÍA

Zaira Michel Hernandez Rocha, Ivan Arroyo Ordoñez.

Universidad Politécnica de Cuautitlán Izcalli Lago de Guadalupe 1, Lomas de Cuautitlán, 54720
Cuautitlán Izcalli, Méx.

1122182013@upci.edu.mx, ivanaor@upci.edu.mx

RESUMEN

Actualmente hay bastantes preocupaciones relacionadas con el desarrollo agrícola, principalmente por la escasez de agua. El uso eficiente del agua es de gran importancia, especialmente donde hay mayor tiempo de sequía. Dada la situación actual con el agua, el empleo de hidroponías es una buena solución para solucionar dichos problemas. Aunado a esto, los distintos problemas en campos agrícolas, tales como la erosión de los suelos, la dependencia de la flora a un determinado ecosistema que está en constante cambio, la intensificación del uso excesivo de fertilizantes y biosidas, junto con los costos económicos y ambientales generados por la sobrepoblación dando como resultado la escasez de alimentos. De igual forma dentro de las problemáticas se encuentra la contaminación generada por los desechos de botellas plásticas que contribuyen al deterioro de los ecosistemas. La hidroponía es una técnica de cultivo que reemplaza la tierra por un sustrato inerte y utiliza soluciones nutritivas para nutrir los cultivos¹. Motivo por el cual su uso se ha vuelto una alternativa productiva para tener un alto rendimiento ya que esta es independiente a variables naturales, a la vez que consume menos recursos hídricos y energéticos. En base a esto se realizó la investigación de los nutrientes y las condiciones que los distintos tipos de plantas requieren para obtener su producto de manera rápida y eficiente, buscando la manera de que sea favorable tanto para la economía como también para el fruto, ya que se buscó que fuese una solución nutritiva orgánica y poco o nada dañina hacia la planta. Como resultado se generó un sistema hidropónico mediante el uso de botellas recicladas de PET y latas de aluminio, con una solución nutritiva hecha a base de cascaras de huevo y plátano dado su alto contenido en potasio, calcio y fósforo, favoreciendo el crecimiento substancial de las plantas de una forma más acelerada y eficaz. Las plantas tuvieron un gran avance sin tener condiciones naturales y a pesar del reducido espacio y la falta de luz natural. Obteniendo vegetales totalmente libres de contaminación, en volúmenes realmente importantes a bajo costo y sin perjuicio para el planeta². En general la hidroponía es una forma eficiente de germinar diferentes tipos de plantas en espacios reducidos y sin necesidad de condiciones especiales dado que los sustratos aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas a un bajo costo. Esto da como resultado la producción de alimentos sin necesidad de reactivos químicos y fomentando la agricultura en casa. Aunado a esto tiene una aportación al medio ambiente, ya que las botellas de PET y latas de aluminio reciben un segundo uso evitando así la contaminación de ecosistemas; dando pie a la educación ambiental sobre el aprovechamiento de ciertos desechos. Además de tener un crecimiento acelerado dado que no se depende de condiciones naturales para la germinación y crecimiento de las plantas.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día las hidroponías han ganado gran popularidad debido a sus grandes ventajas tales como poder tener a nuestra disposición un huerto en casa, el ahorro del agua para los cultivos, e incluso el ahorro de espacio para estos. Las hidroponías convencionales, comerciales, son hechas con PVC en su gran mayoría, su costo aproximado debido a los materiales para su elaboración, además de los sustratos, y semilleros es un 70% más elevado, impidiendo que esté al alcance de cualquier persona; es por ello por lo que se propone una alternativa sustentable que obtiene el mismo resultado, pero a un menor costo, permitiendo que esté al alcance de la población. De igual manera contribuye a la solución de la contaminación por botellas de PET y latas, dándoles un segundo uso, evitando el daño a los ecosistemas y favoreciendo el desarrollo sustentable y sostenible.

A comparación de la manera convencional en la que se siembra, agricultura tradicional, la hidroponía tiene ventajas superiores a esta forma. Por ejemplo, elimina el gasto de maquinaria agrícola, Reduce la contaminación del ambiente y los riesgos de erosión, no depende de fenómenos meteorológicos, acorta el tiempo para la cosecha, entre muchos otros factores. Sin embargo, también requiere de un

mantenimiento y cuidado de las instalaciones, solución nutritiva, materiales, etc.³ Este proyecto tiene como objetivo crear un prototipo de hidroponía funcional a base de materiales reciclados.

DESARROLLO

El desarrollo del prototipo de la hidroponía está basado en un sistema NFT (Nutrient Film Technique), este tipo de sistemas pueden proporcionar agua y nutrientes constantemente creando condiciones ricas en oxígeno controlando el flujo y la profundidad del agua⁶. Dentro del siguiente diagrama se pueden observar las señalizaciones de construcción del prototipo.

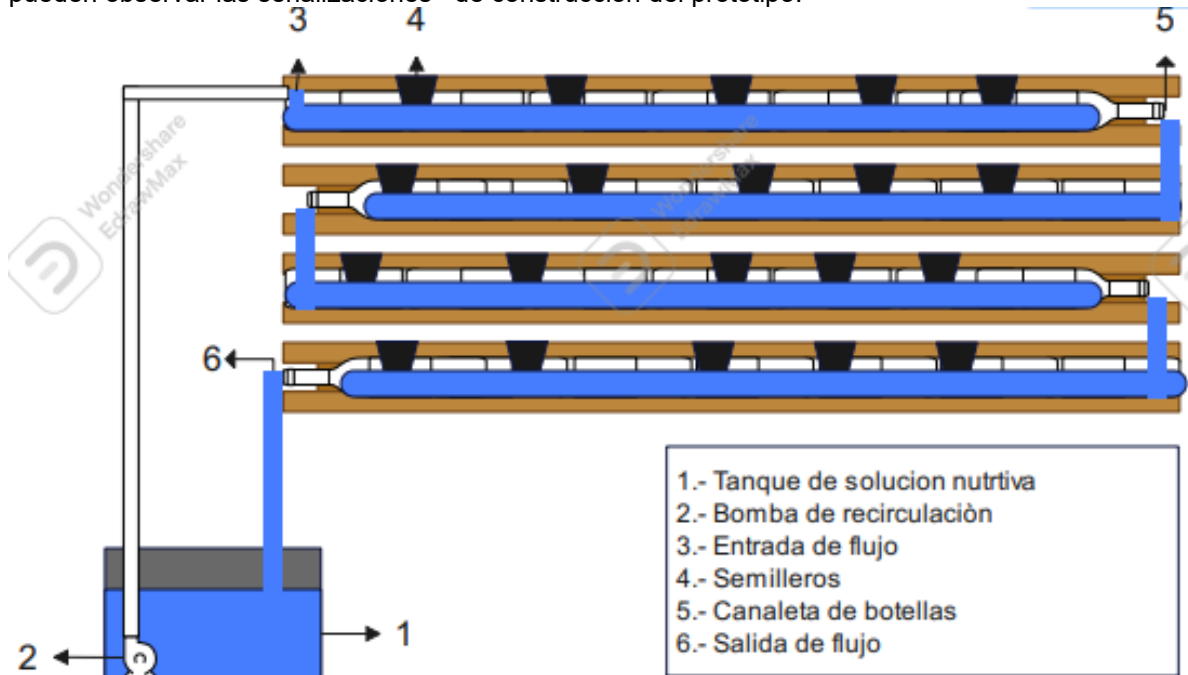


Figura 1 Sistema hidropónico de tipo NFT

Considerando esto el desarrollo del prototipo piloto inició la recolección del material reciclado (botellas de PET y latas); se elaboraron 4 canales, para los que se alternó su construcción entre botella y lata ensamblándolo con la técnica de termo sellado. Posteriormente se les hicieron acondicionamientos para colocar los semilleros; dentro de estos semilleros se usó como soporte para la semilla espuma de polietileno, que tiene la función de retener los nutrientes obtenidos de la solución nutritiva, la cual fue hecha con residuos orgánicos, cáscaras de huevo, y cáscaras de plátano. A continuación, se muestra un diagrama con el procedimiento para el desarrollo de este prototipo.



Figura 2. Recolección de material reciclado (botellas y latas).



Figura 3. Lavado de material.



Figura 4. Acondicionamiento del material



Figura 5. Colocación de filas en la estructura.



Figura 6. Instalar soportes en la estructura.



Figura 7. Unión de botellas con latas mediante el uso de calor.



Figura 8. Asegurar con cinchos.



Figura 9. Ensamblar sistema para generar flujo de agua.



Figura 10. Agregar solución nutritiva en la pecera.



Figura 11. Acondicionar vasos como semillero.



Figura 12. Cortar espuma de polietileno para sujetar la semilla.



Figura 13. Colocar la semilla.

RESULTADOS

Finalizado el prototipo se puso a prueba su funcionamiento y se comprobó que el sistema es eficiente, no presenta fugas, el flujo de agua es constante, el ensamblaje es fácil, además de que no se usó adhesivos para la unión de las canaletas con este diseño es eficiente ya que tiene fugas, el flujo de agua es bueno, es un prototipo fácil de ensamblar y no utiliza adhesivos para su unión.

Los primeros resultados después de 2 días de funcionamiento mostraron las primeras germinaciones de las semillas; algo importante a destacar es que gracias a la solución nutritiva que, debido su alto contenido en nutrientes, tales como: potasio (K), calcio (Ca) y fosforo (P); favoreció el crecimiento substancial de las plantas de una forma acelerada y eficaz. Al igual que el uso de espuma de polietileno como base para las diferentes semillas ayudo a la absorción de nutrientes gracias a la retención de humedad que esta posee.



Figura 14 Sistema hidropónico



Figura 15 Frijol ejotero germinado

CONCLUSIONES

Para finalizar, se logró construir una hidroponía de tipo NFT a base de material reciclado, como una alternativa eficiente en cuanto a tiempo, costo y ensamble. Agregando a lo anterior, la hidroponía a base de material reciclable también es una forma apta de germinar diferentes tipos de plantas en espacios reducidos y sin necesidad de condiciones especiales dado que los sustratos aportan los nutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas a un bajo costo. Esto da como resultado la

producción de alimentos sin necesidad de reactivos químicos y fomentando la agricultura en casa. Aunado a esto tiene una aportación al medio ambiente, ya que tanto las botellas de PET como las latas, reciben un segundo uso evitando así la contaminación de ecosistemas; dando pie a la educación ambiental sobre el aprovechamiento de ciertos desechos. Además de tener un crecimiento acelerado dado que no se depende de condiciones naturales para la germinación y crecimiento de las plantas y aportación para la escasez de agua.

REFERENCIAS

1. *Qué es la hidroponía.* Verde Al Cubo. <https://www.verdealcubo.com/general/informacion/que-es-la-hidroponia>
2. ¿Sabías Que..... Hidroponia: Fabrica de plantas. (n.d.). Retrieved from <https://www.hidroponia.org.mx/index.php/hidroponia-asociacion-hidroponica-mexicana-cursos-historia-imagenes-sistemas-y-todo-lo-que-necesitas-saber/sabias-hidroponia-una-fabrica-de-plantas> Norain et al., Multidisciplinary Applied Research and Innovation Vol. 3 No. 2 (2022) p. 302-311 II
3. Niu, G., & Masabni, J. (2022). Hydroponics. En Elsevier eBooks (pp. 153-166). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-85152-7.00023-9>
4. Shrestha, A., & Dunn, B. (2010). *Hydroponics*. Oklahoma Cooperative Extension Service.
5. Shrestha, A. and Dunn, B. (2017) *Hydroponics - Oklahoma State University, Hydroponics | Oklahoma State University*.
6. Lee, S., & Lee, J. (2015). Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: Types and characteristics of hydroponic food production methods. *Scientia Horticulturae*, 195, 206-215.

EFFECTO DEL CERIO EN EL CONTENIDO DE K Y CA EN HOJAS DE TULIPÁN EN FASE DE SENESCENCIA

Tsujmejy Gómez-Navor, Fresia Pacheco-Sangerman,
Fernando Carlos Gómez-Merino, Libia Iris Trejo-Téllez

Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. México.
mejy.gn@gmail.com

RESUMEN

En tulipán (*Tulipa gesneriana*), el K^+ es un elemento esencial determinante en la translocación de azúcares en el floema y en la regulación del metabolismo de la sacarosa. Por otro lado, la deficiencia de Ca^{2+} ocasiona la fisiopatía denominada como “vuelco de tulipán” que se caracteriza por el doblamiento de los pedúnculos en el cuello de la planta al formarse la flor. En tallos florales cortados, las hojas son la fuente desde la que se translocan estos elementos. Como bioestimulante inorgánico, el cerio (Ce) ha mostrado efectos benéficos en el balance de nutrimentos en plantas. Este estudio evaluó el efecto de la aplicación de Ce^{3+} (Ce: 0, 5, 15 y 25 μM) durante el ciclo productivo de tulipán en la concentración de K^+ y Ca^{2+} en hojas, así como la relación de contenido de éstos. Bulbos de tulipán cultivar Jan van Nes se sembraron en macetas (7 L de capacidad) con una mezcla de tezontle, perlita y turba (70/20/10, v/v/v) y fueron regados con solución nutritiva de Steiner al 50%. La aplicación de los tratamientos inició después de la brotación, a través de la solución de riego. Al finalizar el ciclo del cultivo, se recolectaron las hojas de los tallos florales para determinar la concentración de K^+ y Ca^{2+} por espectroscopía de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES). Con los datos de biomasa seca de hojas se estimaron los contenidos de K^+ y Ca^{2+} . Posteriormente se estimaron relaciones de concentración K^+/Ca^{2+} . Con el software SAS se hizo análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$). El tratamiento de 15 μM Ce redujo tanto la concentración de K^+ como de Ca^{2+} en hojas, respecto al testigo; lo que indica translocación de estos elementos a la flor; sin afectar la relación de contenido existente entre éstos, dado que no muestra diferencia estadística con el testigo. El Ce^{3+} puede tener potencial para promover la translocación de K^+ y Ca^{2+} en tallos florales de tulipán, por lo que se sugiere evaluar otras dosis.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los elementos esenciales para plantas superiores se encuentran el potasio (K^+) y el calcio (Ca^{2+}). El K^+ principalmente como catión en forma libre (K^+) y el calcio divalente (Ca^{2+}) son los iones más abundantes en las células vegetales (Sardans y Peñuelas, 2021).

El K^+ tiene un rol fundamental y complejo en la actividad fotosintética y en el crecimiento de las plantas a través de mecanismos directos e indirectos. La suficiencia de K^+ mejora la fijación de carbono (C), promueve la absorción de nutrimentos y controla la turgencia celular. Este elemento tiene un papel esencial en el control de la apertura de los estomas, permitiendo flujos de gases y agua adecuados. También es necesaria una concentración de K^+ adecuada en los cloroplastos para tener una laminilla del estroma bien estructurada, lo que incide en la integridad de los cloroplastos y en la eficiencia de absorción de luz. Asimismo, se ha registrado que la deficiencia de este elemento suprime fuertemente la biosíntesis y la actividad de la enzima ribulosa bifsosfato carboxilasa oxigenasa (RUBISCO). El K^+ participa también en el transporte y los movimientos ribosómicos que influyen en las tasas de síntesis de proteínas (Sardans y Peñuelas, 2021).

El K^+ también es el catión principal en haces vasculares (xilema y floema). El floema funciona como sistema de transporte a larga distancia para el C fijado, conectando los órganos fuente (hojas) con los órganos demanda. Un transporte equilibrado a larga distancia de sacarosa desde la fuente hasta los tejidos demanda en floema, que comprende los elementos cribosos y las células acompañantes, es muy crítico para el correcto desarrollo de la planta y una alta productividad. El K^+ juega un papel crucial en la translocación eficiente de sacarosa en el floema y su deficiencia ocasiona una disminución del transporte de azúcar del floema desde los tejidos de síntesis a los de demanda. Este

rol se explica porque este elemento asegura un flujo eficiente en el agua al establecer una presión positiva de las raíces. El agua derivada del xilema ingresa a los elementos del floema en vástagos, luego impulsa el flujo masivo de azúcares y se asimila nuevamente en órganos demanda. Asimismo, el K^+ liberado desde el floema al apoplasto actúa como una fuente de energía auxiliar para la translocación de azúcares, cuando la energía celular en forma de ATP es baja (Ho *et al.*, 2020).

Por otra parte, el Ca^{2+} es un elemento necesario para funciones estructurales en la pared y membranas celulares, como contracción para aniones inorgánicos e inorgánicos en la vacuola y como mensajero secundario intracelular en el citosol (Rengel *et al.*, 2023). Si bien la deficiencia de Ca^{2+} es rara, los problemas con este elemento se detectan en su absorción, por ejemplo, al competir con otros cationes que se encuentran en altas concentraciones como el K^+ (Bar-Tal y Pressman, 1996). Asimismo, en soluciones nutritivas, la relación existente entre este elemento y el K^+ se relacionan de manera directa (Peñalosa *et al.*, 1995). En específico, en tallos de tulipán (*Tulipa gesneriana*) la deficiencia de Ca^{2+} provoca una fisiopatía conocida como “vuelco de tulipán” que se caracteriza por el doblamiento de los pedúnculos en el cuello de la planta al formarse la flor (Nelson *et al.*, 2003).

En tallos florales cortados, durante la vida en florero, las hojas representan la fuente desde la que se translocan tanto K^+ como el Ca^{2+} ; lo que impacta en la translocación de azúcares y en la calidad poscosecha. Como bioestimulante inorgánico, el Ce^{3+} ha mostrado efectos benéficos en la germinación, crecimiento, la absorción, transporte, utilización y el balance de nutrimentos en plantas (Ramírez-Olvera *et al.*, 2018; Sobarzo-Bernal *et al.*, 2021).

En el contexto anterior, este estudio evaluó los efectos de la aplicación de Ce^{3+} en la solución nutritiva durante el ciclo productivo de tulipán en la concentración y contenido foliar de K^+ y Ca^{2+} .

PARTE EXPERIMENTAL

Condiciones de crecimiento y material vegetal

La investigación se desarrolló en invernadero, en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, en Montecillo, Estado de México.

Se plantaron bulbos de tulipán (*Tulipa gesneriana* L.) cultivar Jan van Nes en macetas de 7 L de capacidad, empleando como sustrato una mezcla de tezontle, perlita y turba (70/20/10, v/v/v).

Diseño de tratamientos y diseño experimental

A partir de la brotación y hasta el periodo de corte de tallos florales se inició el riego con la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984) al 50%. En la solución nutritiva se ensayaron como tratamientos las siguientes dosis de Ce: 0, 5, 15 y 25 μ M. La fuente empleada de Ce fue $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ (Sigma-Aldrich).

Cada tratamiento tuvo nueve repeticiones, mismas que fueron distribuidas en un diseño completamente al azar. La unidad experimental fue una maceta con una planta.

Variables evaluadas

Al final del ciclo de cultivo se recolectaron las hojas de tallos florales y se secaron en una estufa de aire forzado (Riossa, HCF-125; Guadalajara, México) durante 72 h a 70 °C. Una vez que el tejido estuvo seco fue pesado en una balanza analítica (Adventurer™ Pro, Ohaus, USA). Posteriormente, el tejido seco se molió para la obtención de muestras con 2 mm de tamaño de partícula.

En tejido vegetal seco y molido se determinó la concentración de K y Ca; para lo anterior, se realizó una digestión diácida [$HNO_3:HClO_4$ (2:1, v:v)] en una plancha de digestión a 180 °C. Después las muestras se filtraron y aforaron con agua desionizada a 25 mL. En los extractos resultantes se midió la concentración de K y Ca usando un equipo de espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma acoplado (Agilent, ICP-Optical Emission Spectrometer, 725-ES, EE. UU.).

Con los resultados de concentración y los pesos de biomasa secas foliares se estimó el contenido de K y Ca.

Análisis estadístico

Se hizo un análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), con el software estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute, 2009) versión 9.4.

RESULTADOS

La dosis 15 μM Ce^{3+} redujo el contenido de K^+ en hojas en 24.8%, con respecto al testigo (**Figura 1A**). Esta misma tendencia, se observó en el Ca^{2+} , donde se registraron reducciones de 24% en este mismo tratamiento en comparación con el testigo (**Figura 1B**). Estos resultados indican translocación de ambos elementos de las hojas hacia la flor.

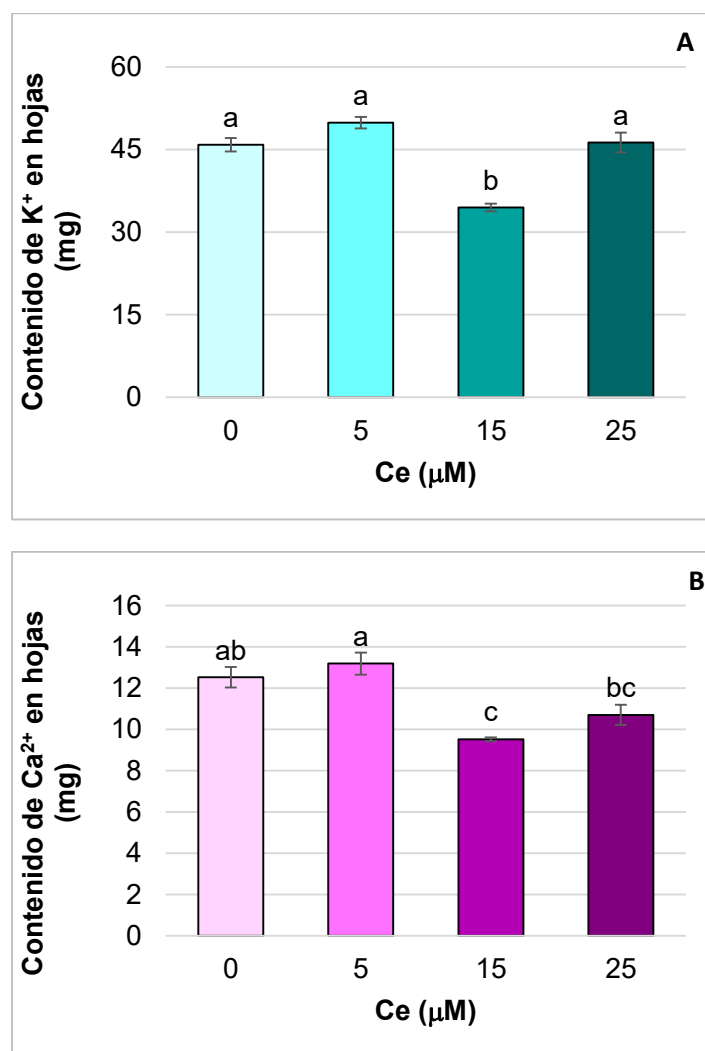


Figura 1. Contenido de K (**A**) y Ca (**B**) en hojas de tallos de tulipán cv. Jan van Nes en fase de senescencia, tratadas con diferentes dosis de Ce vía raíz. Medias $\pm$ DE en cada subfigura con letras distintas, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Es importante notar que la relación $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ no fue modificada con respecto al testigo, en el tratamiento 15 μM Ce^{3+} . Asimismo, se observó que la relación entre nutrientes fue incrementada

en el tratamiento 25 μM Ce^{3+} con respecto al testigo en 17.7%; este resultado debido a la traslocación de Ca^{2+} desde las hojas (**Figura 1C**).

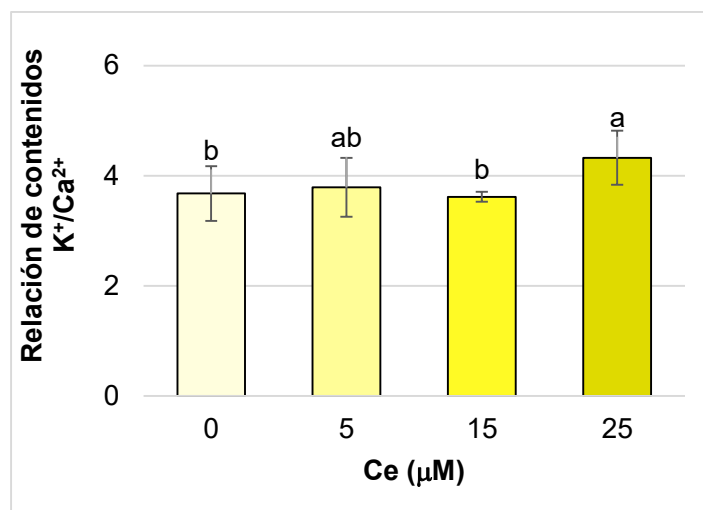


Figura 2. Relación de contenidos de potasio/calcio en hojas de tallos de tulipán cv. Jan van Nes en fase de senescencia, tratadas con diferentes dosis de Ce vía raíz. Medias $\pm$ DE en cada subfigura con letras distintas, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

El Ce^{3+} suministrado durante el ciclo productivo de tulipán a través de la solución nutritiva empleada para el riego, puede tener potencial para promover la translocación de K^+ y Ca^{2+} , desde las hojas de los tallos florales hacia el botón floral lo que puede incrementar su longevidad. Se sugiere explorar otras dosis de este elemento.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Bar-Tal, E. Pressman, "Root restriction and potassium and calcium solution concentrations affect dry-matter production, cation uptake and mineral nutrition", *Journal of Horticultural Sciences*, Vol. 121, 1996, pp. 649–655.
2. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture", Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633–650.
3. J. M. Peñalosa, M. C. Cáceres, M. J. Sarro, "Nutrition of bean plants in sand culture: Influence of calcium/potassium ratio in the nutrient solution", *Journal of Plant Nutrition*, Vol. 18, 1995, pp. 2023–2032.
4. J. Sardans, J. Peñuelas, "Potassium control of plant functions: ecological and agricultural implications" *Plants*, Vol. 10, 2, 419, 2021, <https://doi.org/10.3390/plants10020419>
5. L. H. Ho, R. Rode, M. Siegel, F. Reinhardt, H. E. Neuhaus, J. C. Yvin, S. Pluchon, S. A. Hosseini, B. Pommerrenig, "Potassium application boosts photosynthesis and sorbitol biosynthesis and accelerates cold acclimation of common plantain (*Plantago major* L.)", *Plants*, Vol. 9, 10, 1259, 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9101259>.
6. O. Sobarzo-Bernal, F. C. Gómez-Merino, G. Alcántar-González, C. Saucedo-Veloz, L. I. Trejo-Téllez, "Biostimulant effects of cerium on seed germination and initial growth of tomato seedlings", *Agronomy*, Vol. 11, 1525, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081525>.
7. P. V. Nelson, W. Kowalczyk, C. E. Niedziela Jr., N. C. Mingis, W. H. Swallow, "Effects of relative humidity, calcium supply and forcing season on tulip calcium status during hydroponic forcing", *Scientia Horticulturae*, Vol. 98, 2003, pp. 409–422.
8. S. Ramírez-Olvera, L. I. Trejo-Téllez, S. García-Morales, J. A. Pérez-Sato, F. C. Gómez-Merino, "Cerium enhances germination and shoot growth, and alters mineral nutrient

- concentration in rice", PLoS ONE, Vol. 13, 3, e0194691, 2018, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194691>
9. Z. Rengel, I. Cakmak, P. J. White, "Marschner's Mineral Nutrition of Plants", Fourth Edition, Academic Press, London, UK, 2023.

INMOVILIZACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-*BRUCELLA SPP.* SOBRE SOPORTES DE SILICIO CRISTALINO Y SU CARACTERIZACIÓN POR FT-IR PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UN BIOSENSOR

¹Daniela Bonilla Luna, ²Edith Chávez Bravo & ¹Luis Ramiro Caso Vargas

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas, Puebla, Pue.

¹daniela.bonillal@alumno.buap.mx, ²edith.chavez@correo.buap.mx, ¹ramiro.caso@correo.buap.mx

RESUMEN

La brucelosis, una enfermedad causada por diversas especies de bacterias del género *Brucella*, plantea serias preocupaciones en la industria ganadera mexicana. Se estima que cada vaca afectada puede perder hasta 217 litros de leche en promedio y experimentar una disminución en la fertilidad del 65% debido a los abortos causados por *Brucella abortus* (Xolapa et al., 2010). El impacto económico es significativo, con un informe de 13,543 animales infectados en 2020, generando una pérdida económica puntual de 111.83 millones de pesos, lo que afecta tanto la salud como la economía del sector ganadero. Para abordar este problema, se ha desarrollado un biosensor basado en anticuerpos anti-*Brucella* cp. S19 inmovilizados sobre soportes de silicio funcionalizados con aminosilanos. Esta tecnología permite la detección temprana y específica de la brucelosis en muestras biológicas de ganado infectado. El proceso de construcción del biosensor implica la funcionalización de los fragmentos de silicio y la inmovilización de los anticuerpos anti-*Brucella abortus* S19. Se generaron fragmentos de silicio cristalino de 1X1 cm² con boro tipo P, que fueron limpiados mediante ultrasonido, hidroxilados con solución piraña y funcionalizados con 3-APTMS. El glutaraldehído se utilizó como agente de reticulación para inmovilizar el anticuerpo anti-S19. Cada etapa del proceso se verificó mediante FT-IR de transmisión o ATR en cristal de ZnSe. Los estudios revelaron que las estructuras de silicio pueden ser estudiadas y caracterizadas mediante excitación a diferentes longitudes de onda en distintos tipos de enlace. La adición de nuevos elementos en la superficie puede ser confirmada por cambios en la absorción. Por ejemplo, la adición de amino-silano muestra una respuesta en longitudes de onda de 1,100-1,200 cm⁻¹, mientras que la adición de glutaraldehído y anticuerpo anti-S19 genera nuevos picos en el espectro a longitudes de onda específicas. Los resultados obtenidos permitieron la estandarización del proceso de ensamblaje del biosensor para la detección de *Brucella abortus* cp. S19. Además, facilitaron el desarrollo de un dispositivo capaz de detectar brucelosis de manera rápida, eficiente, accesible y portátil en un sector crucial para la seguridad e inocuidad alimentaria. El biosensor desarrollado representa un avance significativo en la detección de la brucelosis en ganado infectado, con el potencial de mejorar tanto la salud animal como la economía ganadera en México.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis o fiebre de Malta es una enfermedad producida por diferentes especies de bacterias pertenecientes al género *Brucella*. Al ser una enfermedad zoonótica puede ser transmitida de animales a humanos en quienes, incluso si es tratada adecuadamente, es crónica y debilitante; letal en casos raros. La infección puede darse por estar en contacto con material infeccioso o a través de alimentos contaminados, principalmente lácteos no pasteurizados (Dadar, et al., 2022). Entre los productores pecuarios, la brucelosis ocasiona pérdidas importantes de leche y carne, preponderantemente en el ganado bovino, ovino, caprino y porcino, lo que implica un impacto negativo en su economía. Existen reportes en México que estiman la pérdida en 217 litros de leche promedio por vaca y un índice de fertilidad tan bajo como del 65% debido a los abortos producidos por estas bacterias (Xolapa, et al., 2010). Los métodos de detección actuales suelen ser lentos, costosos, poco específicos y accesibles, lo que representa una enorme desventaja para el sector ganadero, principalmente para aquellas comunidades ganaderas rurales. Por lo que la búsqueda y desarrollo de nuevos métodos de detección incorporaría un gran avance para la inocuidad alimentaria y la salud pública.

TEORÍA

Se han identificado 6 especies del género bacteriano *Brucella*, las cuales son *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, y *B. neotomae*, siendo la primera especie la de mayor patogenicidad en ganado. Estas a su vez se subdividen en biovares dependiendo de sus características bioquímicas. Todas ellas tienen la capacidad para mantener una alta incidencia en animales, sin embargo, solo las primeras cuatro pueden infectar a humanos, ocasionando una enfermedad septicémica. Entre los principales síntomas que esta enfermedad provoca se encuentran escalofríos, periodos irregulares de fiebre, sudoración excesiva, fatiga, impotencia sexual, insomnio, anorexia, dolor de cabeza y artralgia (Acha and Szyfres, 2001).

Respecto a la incidencia de brucelosis en México, ejemplificada en la Figura 1, el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) de la Secretaría de Salud, reporta que los casos de brucelosis van a la baja desde 2017, año en el que se reportaron 272 a nivel nacional; de 2018 a 2020 el número de casos reportados fueron: 240, 197 y 194, respectivamente, sin embargo, se estima que los casos reales pueden estar muy por encima de las cifras oficiales debido a la falta de notificación y diagnóstico. Un estudio realizado durante 10 años en cabras de la región del Bajío demostró que la prevalencia de *Brucella* era del 20%, muy superior a otros lugares reportados, tales como: Mongolia e Iraq (Oseguera Montiel, et al., 2015; Kiiza, et al., 2023). En un estudio de percepción sobre *Brucella* realizado en dos comunidades rurales del Estado de Puebla a 100 familias (400 personas), el 95% de los encuestados refirieron conocer los síntomas de brucelosis en animales de granja y el 97% de ellos conoce la vía de transmisión de animales a humanos por medio de los alimentos (Cruz-Aviña, et al., 2022). Esto indica una falta grave en el diagnóstico de esta enfermedad zoonótica.



Figura 2. Casos de brucelosis reportados a nivel nacional 2017-2020 de acuerdo con los datos del SINAVE (SINAVE, 2020)

Existen varios métodos reconocidos por la NOM-041-ZOO-1995 para la detección de *Brucella*: prueba de la tarjeta (comúnmente conocida como “rosa de bengala”), prueba de rivanol, prueba de fijación del complemento y la prueba de anillo en leche. Estas metodologías están basadas en reacciones antígeno-anticuerpo y requieren de un preprocesamiento de la muestra (extracción del suero a partir de la sangre, por ejemplo) para poderse llevar a cabo. Los biosensores son dispositivos de análisis que recientemente ganan terreno a pruebas convencionales debido que son portátiles, miniaturizables y fiables en cuanto al resultado que proporcionan, además tienen la ventaja de que en muchos casos no se requiere un procesamiento previo de muestra y tampoco personal altamente calificado para efectuar la lectura. En nuestro grupo de investigación tenemos experiencia en la

construcción de biosensores empleando soportes de silicio (SiO_2) funcionalizado y el uso de distintos crosslinkers para la inmovilización de diversas biomoléculas, tales como enzimas y anticuerpos. El sistema que proponemos para este proyecto se esquematiza en la Figura 2.

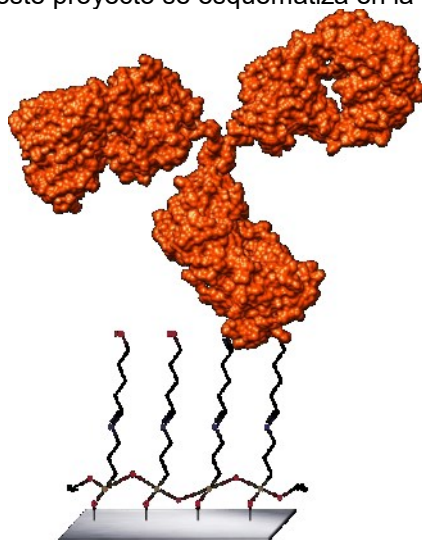


Figura 3. Representación molecular del ensamblaje del biosensor empleando anticuerpos IgG anti-*Brucella abortus* S19 inmovilizados sobre capas auto ensambladas de 3-aminopropiltrimetoxisilano, con glutaraldehído como agente reticulante. Elaboración propia.

PARTE EXPERIMENTAL

El desarrollo de esta investigación se dividió en dos partes; la primera de ellas aborda la inmovilización de anticuerpos específicos anti-*Brucella spp.* sobre soportes de silicio cristalino, la caracterización de los biosensores construidos mediante FT-IR, y la observación detallada de la morfología y composición de sus componentes utilizando microscopio electrónico de barrido (SEM). La segunda parte se enfoca en el análisis inmunoquímico de la bacteria, empleando técnicas como Dot Blot y Western Blot, que nos permitieron verificar la viabilidad y especificidad del anticuerpo para nuestro modelo biológico, e identificar la región antigénica de *Brucella abortus*.

Se utilizaron dos cepas bacterianas, *Brucella abortus* como control positivo y *Brucella melitensis* como control negativo, proporcionadas por el Laboratorio de Patogenicidad Microbiana de la doctora Elsa Iracena Castañeda Roldán. Ambas cepas fueron reactivadas y sembradas por tres métodos de cultivo: Cultivo por extensión en placa, cultivo por estría cruzada y cultivo masivo en placa, y en todos se empleó medio de cultivo Brucella BUAP adicionado con ácido nalidíxico, ciclohexamida y nistatina. En la primera etapa dirigida a la construcción del biosensor, se generaron fragmentos de $1 \times 1 \text{ cm}^2$ de SiO_2 cristalino dopado con Boro, tipo P, limpiados con la técnica de ultrasonificación, hidroxilados mediante inmersión en solución piranha y funcionalizados con 3-APTMS. Se empleó glutaraldehído como crosslinker para inmovilizar el anticuerpo anti-S19. En cada etapa en la construcción del biosensor se comprobó empleando FT-IR de transmisión o por ATR en cristal de ZnSe.

Para probar la viabilidad del α -S19 se llevaron a cabo varios protocolos de inmunoensayo Dot Blot, para los que se desarrollaron dos metodologías, con y sin bloqueo de membrana. Se emplearon tres membranas de nitrocelulosa simultáneamente. Para la primera se suspendió una colonia bacteriana en 1 mL de solución salina estéril, y se depositaron 15 μL de esta suspensión sobre la membrana de nitrocelulosa. En cuanto a la segunda, se utilizó un palillo estéril para tomar una muestra de la bacteria y se aplicó sobre la membrana. La tercera membrana fue destinada como control negativo, en la que únicamente se depositaron 15 μL de solución salina estéril. Para bloquear las membranas, se sumergieron en leche Svelty diluida en buffer de fosfatasa al 2%. Posteriormente, se procedió a la incubación con el α -S19 diluido a una proporción de 1:1000 en buffer de fosfatasa. Luego, se añadió el anticuerpo IgG conjugado con peroxidasa, también diluido 1:1000 en buffer de fosfatasa, sobre cada membrana. Finalmente, se aplicaron los reveladores sobre las membranas, utilizando la Solución DAB compuesta por H_3PO_4 50 mM y tris base 50 mM, junto con peróxido de hidrógeno.

Todo el protocolo previamente descrito se llevó a cabo a temperatura ambiente bajo flujo de campana de bioseguridad tipo 2.

Se llevaron a cabo corrimientos de gel SDS-PAGE para establecer un perfil proteico de nuestra bacteria de interés, *B. abortus*. El extracto de proteínas de *B. abortus* fue preparado a partir de cultivo puro de bacterias en solución salina estéril con modificaciones del protocolo de la Guía de práctica del curso teórico-práctico: WESTERN BLOT y ELISA de la división de biología molecular del Manual de procedimientos de electroforesis para proteínas y DNA del Instituto Nacional de Salud de Lima, Perú. Las bacterias fueron sometidas a un proceso de shock térmico para provocar la lisis. Se mantuvieron a 96 °C durante una hora, posteriormente se realizaron intervalos de 7 minutos a temperaturas de 70 °C y 37 °C. Una vez finalizado este procedimiento, se prepararon geles de poliacrilamida al 12%, para realizar corrimientos electroforéticos de las proteínas extraídas a 90 Volts durante 3 horas, para después realizar la transferencia proteica a 18 volts por 80 min.

RESULTADOS

En la Figura 3 se observan los espectros de infrarrojo correspondiente a cada etapa del proceso de ensamblado del biosensor. El espectro del silicio silanizado con 3-APTMS muestra las bandas características del crecimiento de la red de silanos lateral y transversal en 1130 y 1034 cm^{-1} , así como la presencia del grupo amino por las bandas de 3356, 3292 (tensión N-H) y 1661 (flexión N-H) (Figura 3A). La unión del glutaraldehído se corrobora por la presencia de la banda de 1686 cm^{-1} (imina) y la presencia de grupos C=O libres (1722 cm^{-1}); la banda de 1387 cm^{-1} corresponde a flexiones del grupo aldehído (Figura 3B). El incremento en las bandas que corresponden a la tensión de los grupos metilos y metilenos e la región de ~2870-2950 cm^{-1} se debe a la adición de estos grupos conforme a la cadena originalmente de propilos se adicionan 5 átomos de carbono con sus hidrógenos respectivos (Figura 3A y 3B). En el espectro del anticuerpo se observan las bandas Amida I y II en 1635 y 1545 cm^{-1} , respectivamente debido a los enlaces C=N y N=C=O; así también como la banda Amida A en 3288 cm^{-1} . El análisis de infrarrojo anterior demuestra que el biosensor se ensambla de acuerdo con el diseño.

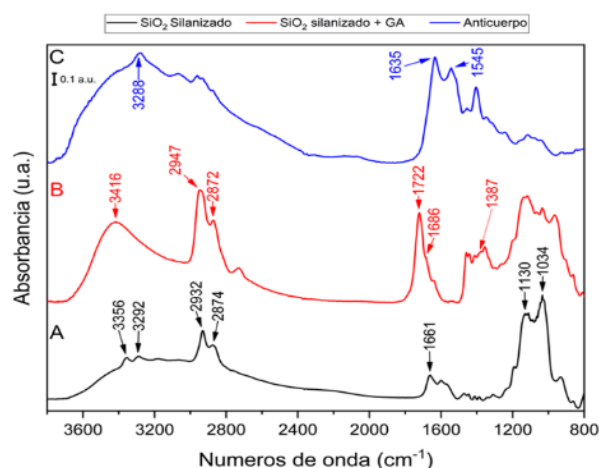


Figura 4. Espectros de IR de: A) Silicio silanizado; B) Silicio silanizado más crosslinker; y C) Anticuerpo Anti-Brucella. Todos los espectros fueron normalizados.

La adición de nuevos elementos en la superficie través de las modificaciones en la absorción (a.u) se puede ejemplificar a través de los enlaces amino-silano que presentan una respuesta a las longitudes de onda de 1,100-1,200(cm^{-1}), sin embargo, la adición de glutaraldehído también aumenta de absorbancia, generando nuevos picos en el espectro, como ocurre a longitudes de onda de 1,387 (cm^{-1}), producto del doble enlace oxígeno-carbono o el generado por la adición del anticuerpo anti-S19 en las longitudes de onda de 1,545-1,635 (cm^{-1}), producto de las aminas I y II. Otros cambios se observan en longitudes de onda 2,874-3,356 (cm^{-1}) producto de los grupos aminos generado tras la funcionalización de las placas de silicio, los picos del glutaraldehído en longitudes

de 2,872-3,356 (cm⁻¹) y para el caso del anticuerpo anti-S19 el pico máximo se da en 3,288, producto de diversos enlaces como C-H para el glutaraldehído y la Amina A para el anticuerpo. Los resultados del dot blot se muestran en la Figura 4. Se utilizaron dos especies distintas de *Brucella*, *B. abortus* S19 y *B. melitensis* M16, y un anticuerpo policlonal de conejo anti-*Brucella* spp., teniendo un resultado positivo para ambas pruebas, lo que sugiere que el epítipo reconocido por el anticuerpo se encuentra conservado en todo el género bacteriano, y no solo en una especie.

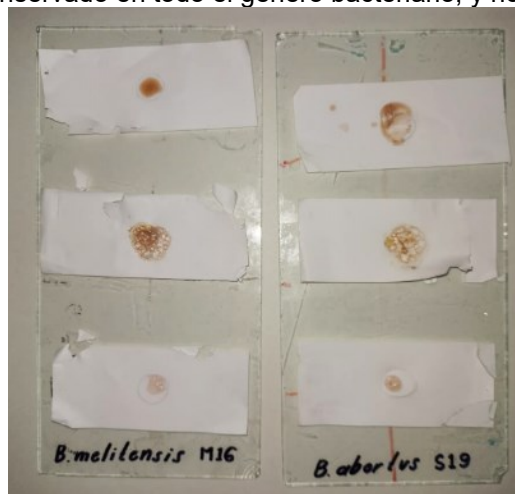


Figura 5. Resultados de Dot Blot utilizando anticuerpo policlonal de conejo anti-*Brucella*, probado en dos especies diferentes. A) *B. melitensis* M16 y B) *B. abortus* S19.

Por último, en la Figura 5 se muestra una microscopía electrónica de barrido (SEM) de nuestro biosensor ensamblado, donde se puede apreciar la unión de la bacteria al mismo, gracias al reconocimiento por parte de los anticuerpos ensamblados.

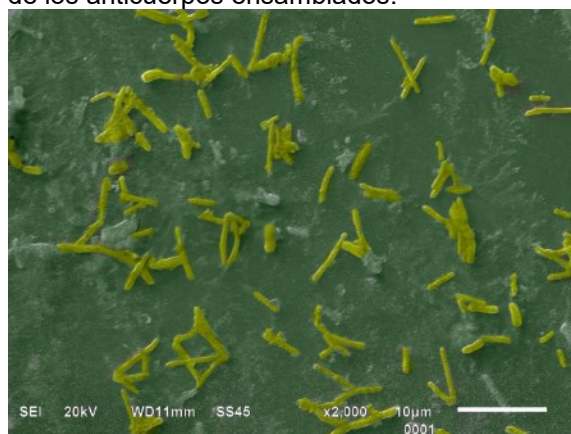


Figura 6. Microscopía SEM del biosensor ensamblado en contacto con muestra de *B. abortus*.

CONCLUSIONES

Se logró estudiar y caracterizar las estructuras de silicio a través de la excitación a diferentes longitudes de onda (cm⁻¹) en distintos tipos de enlace. A su vez se comprobó la adición de nuevos elementos en la superficie a través de las modificaciones en la absorción (a.u). Se logró la estandarización del proceso de ensamblado del biosensor para la detección de *Brucella abortus* cp. S19. Se sigue evaluando su capacidad de detección in-vitro para diversas muestras de consumo humano, para la creación de un método de detección de brucelosis accesible y eficiente, lo cual representa un gran aporte para los procesos económicos que envuelve a la industria ganadera y láctea, enfocando todo esto a la inocuidad alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acha, P.N. and Szyfres, B. "Zoonoses and communicable diseases common to man and animals", in *Pan American Health Organization* (Washington, DC. 1980) pp. 28-45.
2. Belzer, C. A., Tabatabai, L. B., & Deyoe, B. L. "Differentiation by western blotting of immune responses of cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 or infected experimentally or naturally with virulent *Brucella abortus*". *Veterinary microbiology*, Vol. 27, 1, 1991, pp. 79-90. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(91\)90064-m](https://doi.org/10.1016/0378-1135(91)90064-m)
3. "Manual de procedimientos de electroforesis para proteínas y ADN" en Instituto Nacional de Salud de Perú, 2013. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/322117-manual-de-procedimientos-de-electroforesis-para-proteinas-y-adn>. Recuperado el 20 de abril de 2024
4. Moreno E, Pitt MW, Jones LM, Schurig GG, Berman DT. "Purification and characterization of smooth and rough lipopolysaccharides from *Brucella abortus*". *J Bacteriol*, Vol. 138, 2, 1979, pp. 361-9. doi: 10.1128/jb.138.2.361-369.1979. PMID: 108257; PMCID: PMC218186.
5. Schumaker, B. A., Mazet, J. A., Gonzales, B. J., Elzer, P. H., Hietala, S. K., & Ziccardi, M. H. "Evaluation of the Western immunoblot as a detection method for *Brucella abortus* exposure in elk. *Journal of wildlife diseases*" Vol. 46, 1, 2010, pp. 87-94. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.1.87>
6. Schurig, G. G., Roop, R. M., 2nd, Bagchi, T., Boyle, S., Buhrman, D., & Sriranganathan, N. "Biological properties of RB51; a stable rough strain of *Brucella abortus*". *Veterinary microbiology*, Vol 28, 2, 1991, pp. 171-188. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(91\)90091-s](https://doi.org/10.1016/0378-1135(91)90091-s)
7. Wu, A. M., Amdams, L. G., & Pugh, R. "Immunochemical and partial chemical characterization of fractions of membrane-bound smooth lipopolysaccharide-protein complex from *Brucella abortus*". *Molecular and cellular biochemistry*, Vol. 75, 2, 1987, pp. 93-102. <https://doi.org/10.1007/BF00229897>

SULFATO EN LA CONCENTRACIÓN Y CONTENIDO DE HIERRO, COBRE Y ZINC EN COL

Fresia Pacheco-Sangerman^{1*}, María Guadalupe Peralta-Sánchez¹, Fernando C. Gómez-Merino², Gabriel Alcántar-González¹, Libia I. Trejo-Téllez¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología, Montecillo, Estado de México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Fisiología Vegetal, Montecillo, Estado de México.
pacheco.fresia@colpos.mx

RESUMEN

El azufre (S) es un elemento esencial, perteneciente al grupo de los macronutrientes por su alta demanda por parte de plantas superiores. Sus funciones en el metabolismo vegetal son fundamentales para el crecimiento y desarrollo. Este elemento se encuentra presente tanto en formas inorgánicas como en compuestos orgánicos y se presenta tanto en forma reducida como oxidada. Participa activamente en el mantenimiento de la homeostasis de micronutrientes como Fe, Cu y Zn. Asimismo, ligandos orgánicos derivados del S participan de manera sustantiva en la traslocación de metales *in planta*. Por lo anterior, en este estudio se evaluaron los efectos de tres niveles de sulfato (SO_4^{2-} : 3.50, 4.25 y 5.0 mM) en la solución nutritiva, en la concentración y contenido de Fe, Cu y Zn en vástagos de col (*Brassica oleracea* cv. Royal). Para ello, se condujo un experimento en un sistema hidropónico empleando la solución nutritiva Universal de Steiner, a la cual se le modificaron las concentraciones de SO_4^{2-} . Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y las unidades experimentales estuvieron compuestas por macetas de 12 L, acondicionadas para sostener tres plantas. Después de 40 d de tratamiento, se analizaron en vástago las concentraciones de Fe, Cu y Zn mediante espectroscopía de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES). Los datos de concentración y las biomásas secas de vástago se emplearon para la estimación de los contenidos de estos elementos en vástago. Con el software SAS se analizaron los resultados obtenidos [análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$)]. La concentración de Fe en vástago fue mayor con las dosis 4.25 y 3.25 mM SO_4^{2-} ; mientras que las de Cu y Zn fueron superiores con el tratamiento 3.25 mM SO_4^{2-} , con valores mayores en 25 y 8.8% respectivamente, a las concentraciones promedio de estos elementos en las dos dosis adicionales de SO_4^{2-} . Los datos obtenidos en concentraciones nutrimentales se relacionan en forma positiva con los de contenidos nutrimentales; observándose por tanto mayor acumulación Fe con el tratamiento 4.25 mM SO_4^{2-} y del Cu y Zn con 3.25 mM SO_4^{2-} . Estos resultados permiten concluir que la concentración y contenido de Fe aumentan en vástago, con el incremento en la dosis de SO_4^{2-} en la solución nutritiva de 3.25 a 4.25 mM. Asimismo, que la dosis más alta evaluada de SO_4^{2-} (5.00 mM) tiene efectos negativos en la absorción y acumulación de Fe, Cu y Zn.

INTRODUCCIÓN

Las interacciones entre múltiples nutrientes afectan la absorción, el transporte y la asimilación unos de otros en las plantas. Por lo tanto, es necesario estudiar las interacciones multinivel entre los elementos para comprender mejor las vías de detección y señalización desencadenadas en respuesta a la disponibilidad variable de elementos esenciales (Kumar *et al.*, 2021).

El S está presente en varios compuestos debido a su capacidad para cambiar fácilmente de estado de oxidación. La mayor parte del azufre en los organismos vivos se encuentra en forma reducida como azufre orgánico y tioles; mientras que, en el medio ambiente se presenta principalmente como sulfato inorgánico oxidado (Wawrzyńska y Sirko, 2014). Es componente de los aminoácidos proteicos, metionina y cisteína, vitaminas (biotina y tiamina), fitoquelatinas, clorofilas, coenzima A y la S -adenosilmetionina. Ofrece protección contra el daño oxidativo a través del glutatión y sus derivados. También es componente de varios metabolitos secundarios y es necesario para las funciones fisiológicas, el crecimiento y el desarrollo de las plantas (Narayán *et al.*, 2022).

La deficiencia de Fe es uno de los principales problemas agrícolas que conducen a menores rendimientos de los cultivos. El Fe es un elemento esencial en las plantas donde participa en la

síntesis de clorofilas, los cloroplastos en la mayoría de las hojas contienen alrededor del 80% de Fe. El PS-I (fotosistema-I) es el aparato fotosintético con el mayor contenido de Fe en toda la cadena de transporte de electrones. La deficiencia de Fe provoca alteraciones de la estructura y actividad de PS-I. En la respiración se encuentra asociado con enzimas como el citocromo, catalasa (CAT) y peroxidasa (POD), y el metabolismo del nitrógeno (Ning *et al.*, 2023).

El Cu es otro elemento esencial para el crecimiento de las plantas, está relacionado con muchos procesos fisiológicos y bioquímicos de las mismas. Participa como cofactor de muchas enzimas, como lacasa (LAC), citocromo c oxidasa (CcO), polifenol oxidasa (PPO), superóxido dismutasa de cobre/zinc (Cu/Zn-SOD) y cobre amino oxidasa (CuAO). El Cu también se asocia con la fosforilación oxidativa, el tráfico de proteínas, la regulación de señales y el metabolismo de lípidos y de Fe (Chen *et al.*, 2022).

Por otro lado, el Zn desempeña funciones como constituyente de más de 300 enzimas. Este es el único elemento que se encuentra en las seis clases de enzimas (liasas, transferasas, hidrolasas, isomerasas, oxidoreductasas y ligasas). El Zn influye en la actividad, la integridad estructural y el plegamiento de numerosas proteínas como enzima fundamental o catalítica. Además tiene una función como factor clave para la integridad estructural de los ribosomas. Las proteínas que contienen Zn en las plantas incluyen enzimas como anhidrasa carbónica (AC), aldehído deshidrogenasa (ALDH), Cu/Zn-SOD y las proteínas de unión a ADN denominadas dedos de Zn (Hamzah *et al.*, 2022). También es un estimulador de la fructosa 1,6-bifosfato aldolasa (FBA), que participan en el metabolismo del carbono. Es componente integral de varias biomoléculas como lípidos y proteínas; por lo tanto, juega un papel importante en el metabolismo de los ácidos nucleicos de las plantas (Umair *et al.*, 2020).

Derivado de lo anterior el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de tres dosis de sulfato en la concentración de los micronutrientes Fe, Cu y Zn en plantas de (*Brassica oleracea*) cv. Royal.

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación del experimento y condiciones experimentales

La investigación se realizó en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, en un invernadero de plástico con 30% de sombra y con luz difusa, tipo túnel, con ventana cenital, y estructura de malla antiáfidos en partes laterales; cuyas coordenadas geográficas son 19° 27' 42.98" N, 98° 54' 31.95" O y 2245 m de altitud.

Material vegetal

Se utilizaron plántulas de col (*Brassica oleraceae*) cv. Royal, las cuales fueron germinadas en charolas de 200 cavidades y como sustrato una mezcla de perlita y turba en una proporción 1:1 (v:v). Las plántulas desarrollaron y crecieron bajo condiciones controladas de invernadero durante 30 d, manteniendo el sustrato a capacidad de campo mediante riegos frecuentes. Al finalizar este periodo fueron trasplantadas en el lugar definitivo, las plantas tenían una altura media de 10 cm.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

El experimento estuvo compuesto por tres niveles de SO_4^{2-} (3.5, 4.25 y 5 mM). Los tratamientos fueron suministrados en la solución universal de Steiner (Steiner, 1984), misma que se modificó para establecer las tres concentraciones de SO_4^{2-} sin alterar el potencial osmótico de la solución. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y se dispusieron en un diseño experimental completamente al azar. Las unidades experimentales estuvieron compuestas por macetas de 12 L acondicionadas para sostener tres plantas cada una.

Las plantas se desarrollaron en un sistema de raíz flotante por lo que las macetas contaban con sistema de oxigenación y estaban adaptadas a un temporizador de ocho tiempos programado cada 2 h con periodos de oxigenación de 15 min.

Manejo del experimento

Las plantas se sometieron a 14 d de adaptación en el sistema de raíz flotante, después de ese tiempo se aplicaron los tratamientos con los cuales desarrollaron durante 40 d. El pH de la solución de las macetas se monitoreo todos los días y se ajustó a 5 usando H_2SO_4 sin alterar la presión osmótica.

Variables evaluadas

Después de 40 d de aplicados los tratamientos a las plantas, éstas se retiraron de la solución nutritiva y se procedió a separar el vástago de la raíz. Las muestras se colocaron en una estufa de aire forzado (Riossa HCF-125) a 70 °C hasta peso constante, posteriormente se obtuvo el peso seco de las muestras.

Para la determinación de Fe, Cu y Zn, se pesaron 0.5 g de cada muestra de vástago en tubos y se adicionaron 5 mL una mezcla biácida ($\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$, 2:1, v:v). Posteriormente se colocaron en una plancha de digestión a 160 °C hasta obtener un volumen aproximado de 2 mL. Después se aforaron con agua desionizada a 25 mL y se filtraron con ayuda de papel de poro medio. Los extractos resultantes se leyeron en el equipo de espectroscopía de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (Agilent, ICP-Optical Emission Spectrometer, 725-ES, Santa Barbara, CA, EE. UU.).

Con los datos de biomasa seca de vástago y las concentraciones de Fe, Cu y Zn, se estimaron los contenidos de estos elementos.

Análisis de datos

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza para evaluar la significancia de los factores de estudio y de su interacción. Posteriormente, con los resultados que fueron diferentes entre tratamientos, se hicieron pruebas de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), empleando el software SAS 9.0 (SAS, 2009).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de concentración y contenido de Fe, Cu y Zn en plantas de col se presentan en la Figura 1.

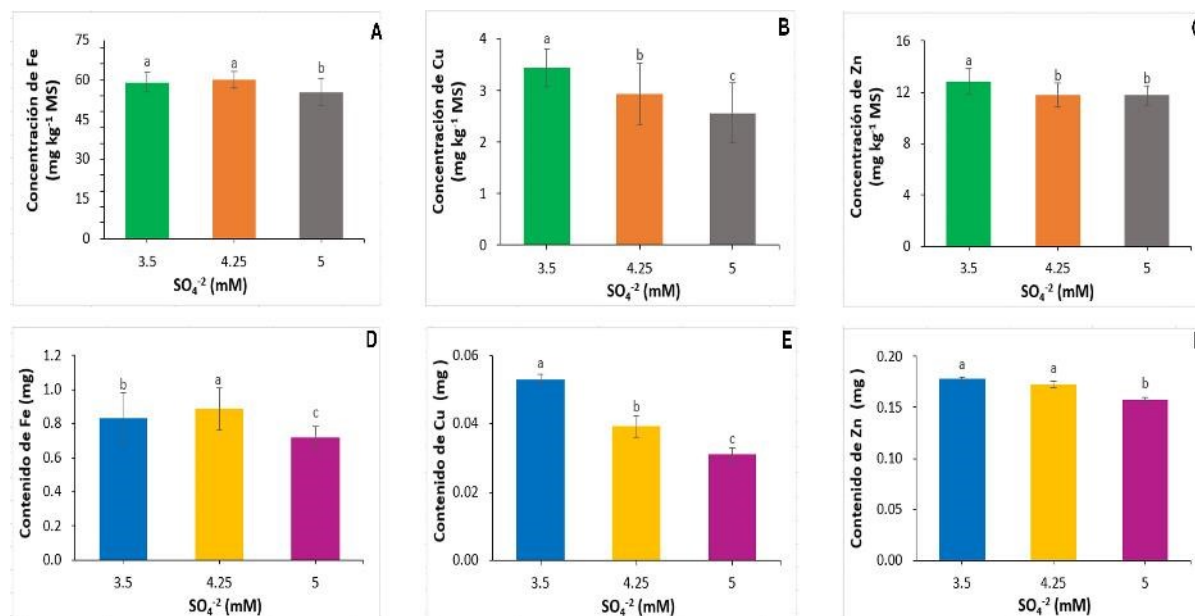


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de SO_4^{2-} en la concentración de Fe (A), Cu (B) y Zn (C) y contenidos de Fe (D), Cu (E) y Zn (F) en plantas de col. Medias $\pm$ DE con letras distintas en cada subfigura indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

La concentración de Fe en vástago fue mayor con las dosis 3.50 y 4.25 mM SO_4^{2-} (**Figura 1A**); mientras que las de Cu y Zn fueron mayores en el tratamiento 3.50 mM SO_4^{2-} , con valores superiores en 25 y 8.8 % respectivamente, en comparación con el resto de las dosis de SO_4^{2-} evaluadas (**Figura 1B, C**).

Los datos obtenidos en concentraciones nutrimentales se relacionan en forma positiva con los de contenidos nutrimentales; observándose por tanto mayor acumulación de Fe con el tratamiento 4.25 mM SO_4^{2-} y del Cu y Zn con 3.50 mM SO_4^{2-} (**Figura 1D, E, F**).

Los resultados mostraron interacción del S con el Fe, el Cu y el Zn debido a que se conoce que el S interactúa con algunos macronutrientes, como N, P y K, así como con algunos micronutrientes, como Fe, Mo, Cu, Zn y B (Astolfi *et al.*, 2021).

El S interactúa directamente con el Fe formando complejos y enlaces químicos, como grupos Fe-S. La capacidad de las plantas para absorber y acumular Fe depende en gran medida de la disponibilidad de S en el medio de crecimiento tanto en plantas monocotiledóneas como en dicotiledóneas; mientras que, la deficiencia de Fe induce un aumento significativo en la demanda de S, lo que resulta en una mayor tasa de absorción y asimilación de S, similar a lo que sucede bajo la deficiencia de S (Astolfi *et al.*, 2021).

En caso del Zn el S es esencial para una mejor absorción y transporte de las raíces, así como para la deposición de Zn en las semillas al afectar la liberación de fitosideróforos en las raíces. El aminoácido metionina que contiene S es el sustrato clave para la biosíntesis de fitosideróforos, como el ácido-deoximugineico y la nicotianamina. Estos últimos son compuestos quelantes de Zn y Fe que están involucrados en su transporte. Por lo tanto, el estado nutricional de S de las plantas puede influir significativamente en la absorción, el transporte y distribución de Zn y Fe en las plantas de cultivo al afectar la biosíntesis de nicotianamina y fitosideróforos (Khampuang *et al.*, 2023).

CONCLUSIONES

La concentración y el contenido de Fe aumentan en vástago, con el incremento en la dosis de SO_4^{2-} en la solución nutritiva de 3.50 a 4.25 mM. Asimismo, la dosis más alta evaluada de SO_4^{2-} (5.00 mM) tiene efectos negativos en la absorción y acumulación de Fe, Cu y Zn.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The universal nutrient solution". In: I. S. O. S. C. Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. Wageningen, Netherlands, 1984, pp. 633–649.
2. A. Wawrzyńska, A. Sirko, "To control and to be controlled: understanding the *Arabidopsis* SLIM1 function in sulfur deficiency through comprehensive investigation of the EIL protein family", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 5, 575, 2014.
3. G. Chen, J. Li, H. Han, R. Du, X. Wang, "Physiological and Molecular Mechanisms of Plant Responses to Copper Stress", *International Journal of Molecular Science*, Vol. 26, 23, 2022.
4. H. Umair, M. Aamer, C. Umer, T. Haiying, B. Shahzad, L. Barbanti, M. Nawaz, A. Rasheed, A. Afzal, Y. Liu, G. Huang, "The Critical Role of Zinc in Plants Facing the Drought Stress", *Agriculture*, Vol. 10, 396, 2020.
5. K. Khampuang, N. Chaiwong, A. Yazici, B. Demirer, I. Cakmak, C. Prom-U-Thai, "Effect of sulfur fertilization on productivity and grain zinc yield of rice grown under low and adequate soil zinc applications", *Rice Science*, Vol. 30, 6, 2023.
6. M. Hamzah, K. Usman, M. Rizwan, H. Al Jabri, M. Alsafran, "Functions and strategies for enhancing zinc availability in plants for sustainable agriculture", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 7, 13, 2022.
7. O. Narayan, P. Kumar, B. Yadav, M. Dua, A. Johri, "Sulfur nutrition and its role in plant growth and development", *Plant Signaling & Behavior*, Vol. 7, 2030082, 2022.

8. S. Kumar, S. Kumar, T. Mohapatra "Interaction between macro and micro-nutrients in plants", *Frontier in Plant Science*, Vol.12, 665583, 2021.
9. S. Astolfi, S. Celletti, G. Vigani, T. Mimmo, S. Cesco, "Interaction Between Sulfur and Iron in Plants", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 12, 670308, 2021.
10. SAS Institute Inc., *SAS/STAT Software: Changes and Enhancements*, Release 6.10, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2009.
11. X. Ning, M. Lin, G. Huang, J. Mao, Z. Gao, X. Wang, "Research progress on iron absorption, transport, and molecular regulation strategy in plants", *Frontiers in Plant Science*, Vol., 3, 14, 2023.

“USO DE SOLVENTES EUTÉCTICOS PROFUNDOS NATURALES COMO ALTERNATIVA A SOLVENTES CONVENCIONALES PARA EXTRACCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS DE HOJAS DE NEEM (*AZADIRACHTA INDICA*)”

Dayana Medina Robledo, Eva González Jasso y Mónica Araceli Vidales Hurtado

Instituto Politécnico Nacional, CICATA Unidad Querétaro, Cerro Blanco No. 141, Col. Colinas del Cimatario, Santiago de Querétaro, Qro, C.P. 76090, México.
dayana_medina09@hotmail.com

RESUMEN

El proceso de la extracción de compuestos bioactivos de plantas con solventes orgánicos convencionales ha sido ampliamente utilizado, en buena medida por su alta eficiencia, sin embargo, su manejo representa un riesgo para la salud y el medio ambiente, lo cual limita sus aplicaciones, debido a ello, diversas áreas científicas trabajan con la filosofía de la química verde desarrollando metodologías sostenibles. Como alternativas se han desarrollado los llamados solventes verdes, en específico los solventes eutécticos profundos naturales (NADES) como solución prometedora y respetuosa con el medio ambiente. Los NADES en combinación con ultrasonido se han empleado en la extracción de compuestos bioactivos de plantas medicinales los cuales son usados en diversas industrias. En este estudio se obtuvieron dos extractos de hojas de neem utilizando un NADES y etanol, para comparar la efectividad de ambos solventes, adicionalmente, se utilizaron dos tipos de procesos, la maceración dinámica y el ultrasonido durante 6 h. El NADES se preparó con cloruro de colina y glicerol (1:2) y el etanol se utilizó al 99.9%. La cuantificación de los principios activos se realizó a través de la determinación del contenido total de polifenoles y flavonoides, por el método Folin-Ciocalteu y el método del tricloruro de aluminio, usando como referencias ácido gálico y quercetina. Cuando se utilizó la maceración dinámica el extracto etanólico duplicó el contenido total de polifenoles medido con los equivalentes de ácido gálico, con respecto al extracto eutéctico. Por otro lado, el extracto eutéctico por ultrasonido cuatriplicó el contenido total de flavonoides medido con los equivalentes de quercetina con respecto al extracto etanólico. Con base en los resultados, los solventes eutécticos son alternativas verdes prometedoras, sin embargo, se requiere más investigación para comprender completamente su eficacia y aplicabilidad en comparación con los solventes convencionales.

INTRODUCCIÓN

Azadirachta indica también conocido como neem, es un árbol de hojas perennes perteneciente a la familia Meliaceae. es cultivado en al menos 30 países de Asia, África y América (Suttiarporn *et al.*, 2020). Diversas investigaciones han dado lugar a nuevos conocimientos acerca del aprovechamiento de sus compuestos bioactivos que se encuentran en casi todas sus partes (hojas, flores, frutos, semillas y corteza), estos compuestos desempeñan un papel biológico importante principalmente para los sectores farmacéuticos y agrícolas. El más reconocido es la azadiractina, que se encuentra en sus hojas y es utilizado como biopesticida en el sector agrícola. Además, se considera que los extractos y aceites derivados del neem poseen actividad antiinflamatoria, antioxidante, antiviral, entre otras. (Heyman *et al.*, 2017). Estos compuestos se han extraído de forma más eficiente con las técnicas modernas o no convencionales de alto rendimiento asistidas por ultrasonido, microondas, enzimas, y líquido presurizado, por mencionar algunas (Sarkar *et al.*, 2021). Entre sus ventajas se encuentran la mejora en el rendimiento, el ahorro de tiempo, costos y solventes. Sin embargo, existe el riesgo de la posible degradación de compuestos fenólicos debido al calor o la temperatura utilizada durante el proceso de extracción, por lo que es importante y necesario establecer los parámetros correctos (Pollini *et al.*, 2021). Por otra parte, estudios han revelado que los solventes utilizados en la extracción, tanto por técnicas convencionales como no convencionales, como el etanol, metanol y acetona, presentan daños al medio ambiente que pueden ser perjudiciales para el ser humano debido a su alta residualidad y toxicidad (Jiménez *et al.*, 2022). En la actualidad, la contaminación sigue siendo un problema a nivel mundial y los solventes abarcan una considerable parte de ésta. Diversas investigaciones se han dedicado al desarrollo de nuevos solventes más ecológicos, capaces de mejorar el rendimiento de la extracción de fitoquímicos, que sean inocuos y además con

una amplia versatilidad. Estos solventes, conocidos como solventes eutécticos profundos (DES) y sus derivados los solventes eutécticos profundos naturales (NADES), son considerados “los nuevos solventes verdes”. Los DES y los NADES se componen de un donador de enlaces de hidrógeno (HBD), que suelen ser azúcares, aminoácidos, ácidos carboxílicos, aminas, entre otros, y un aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA), como las sales de fosfonio o amonio cuaternario representado por el cloruro de colina el aceptor más utilizado (Li *et al.*, 2022). Diversos estudios revelan que la interacción entre los componentes de los solventes eutécticos, como el intercambio aniónico, interacciones débiles no covalentes y/o formación de enlaces de hidrógeno, es el factor más importante para determinar su eficacia. No obstante, para la selección del HBD y HBA se deben tomar en cuenta propiedades como la biodegradabilidad, toxicidad y estabilidad térmica (Plastiras *et al.*, 2020). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue obtener por ultrasonido los extractos de las hojas de neem en solventes etanólicos y eutécticos para valorar su potencial antioxidante.

TEORÍA

Neem: compuestos activos y aplicaciones

El neem ha ganado reconocimiento por sus múltiples aplicaciones y potencial terapéutico en diversas enfermedades, debido a que, en sus hojas, flores, frutos, semillas, raíz y corteza, tienen importantes compuestos bioactivos como metabolitos primarios (proteínas, carbohidratos, ácidos grasos, aminoácidos, carotenoides, vitamina C) y metabolitos secundarios. que se han aislado de todas sus partes, entre los principales están los limonoides del tipo di, tri tetranor-terpenoides (aladucina, valassina, meliacina, nimbina, nimbidina, nimbolida, salanina y azadiractina), alcaloides, polifenoles, flavonoides (quercetina), coumarinas, etc. Entre los 250 compuestos aproximadamente, que se le han identificado (Sarah *et al.*, 2019).

El neem es reconocido por sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antivirales, antibacteriales, anticancerígenas, neuroprotectoras, antifúngicas, hepatoprotectoras, entre otras (Sarah *et al.*, 2019). La nimbolida reduce la inflamación al inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias; los compuestos fenólicos neutralizan radicales libres y protegen el daño oxidativo celular y el neem también ha demostrado ser eficaz contra virus, interfiriendo con su replicación y fortaleciendo el sistema inmune del organismo (Sarkar *et al.*, 2021). Se ha utilizado para tratarla hipersecreción gástrica, diabetes mellitus tipo 2, donde se reduce significativamente los niveles de hemoglobina glicosilada, la malaria, regulación de las funciones hepáticas, prevención de daños cerebrales e incluso protección contra infecciones como el VIH en un 75% (Utkarsh *et al.*, 2020) y actualmente se están realizando estudios clínicos para evaluar el efecto en la inhibición del cáncer (Batra *et al.*, 2022). En el sector agrícola, el neem se emplea como pesticida orgánico y fungicida muy eficaz, y en la alimentación animal. En la cosmética, dependiendo de las partes utilizadas del neem derivan los productos como jabones, champús, pastas de dientes, aceites esenciales y cremas repelentes (Pijoan, 2004). Su amplia distribución geográfica y adaptabilidad a diversas condiciones climáticas subrayan el valor que se le ha otorgado en distintas culturas.

Métodos de extracción de compuestos bioactivos

Métodos convencionales

Las técnicas de extracción convencionales incluyen la maceración, la percolación, digestión ácida, Soxhlet y la extracción con solventes líquidos. Estas técnicas han sido ampliamente utilizadas en la extracción de compuestos bioactivos de materiales vegetales y algunos otros productos naturales durante mucho tiempo. Sin embargo, estos métodos también tienen sus limitaciones, como lo es la baja eficiencia y el tiempo prolongado. El uso de altas temperaturas puede ser perjudicial para compuestos sensibles presentes en estos materiales como lo son los polifenoles además de que grandes cantidades de solventes, lo que puede ser riesgoso para la salud y el medio ambiente (Zhang *et al.*, 2018).

Métodos no convencionales

Los métodos no convencionales o alternativos buscan reducir el impacto ambiental al disminuir o eliminar el uso de disolventes y reactivos tóxicos, Entre las técnicas destacadas se encuentran la extracción asistida por ultrasonidos, la extracción con solventes presurizados, la extracción asistida

por microondas y la extracción con fluidos supercríticos (Armenta *et al.*, 2019). Estas técnicas ofrecen beneficios ambientales, así como mejoras en el rendimiento, ahorro de tiempo y costos, como la extracción asistida por ultrasonidos y la extracción con solventes presurizados. Elegir un método de extracción adecuado para aislar compuestos bioactivos es crucial, ya que la preparación de la muestra, como el primer paso en el análisis de plantas medicinales, tiene un impacto significativo en los resultados finales.

Impacto ambiental de los solventes en técnicas de extracción

El impacto ambiental adverso a los procedimientos analíticos se ha logrado mitigar con los principios de la química verde, mediante tres enfoques diferentes: disminución del volumen de disolventes requeridos en la etapa de preparación de muestra, disminución en la cantidad de los disolventes tóxicos y de los reactivos utilizados (Plastiras *et al.*, 2020). Por lo que, esto conlleva la aplicación de solventes más ecológicos y que además cumplan características favorables capaces de mejorar el rendimiento de la extracción de fitoquímicos, que sean inocuos y además con una amplia versatilidad.

Solventes eutécticos profundos (DES) y naturales (NADES)

Los solventes eutécticos profundos (DES) y sus derivados los solventes eutécticos profundos naturales (NADES) considerados como “los nuevos solventes verdes” se forman a partir de dos sustancias un donador de enlaces de hidrógeno (HBD) que suelen ser azúcares, aminoácidos, ácidos carboxílicos, aminas, entre otros y un aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA) como el cloruro de colina, mentol o la betaína (Li *et al.*, 2022). La mezcla de ambos se caracteriza por tener un punto de fusión menor al de cada uno de forma independiente, su interacción es un factor importante para la determinar su eficacia, biodegradabilidad, toxicidad y estabilidad térmica (Plastiras *et al.*, 2020).

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de la materia vegetal

Las hojas de neem (*Azadirachta indica*) lavadas se dejaron secar a temperatura ambiente bajo sombra durante una semana, posteriormente se seleccionaron y molieron mecánicamente a un tamaño de partícula de 250 μm que se determinó con un tamiz de pruebas físicas de acero inoxidable de la marca “MONT INOX” con abertura de malla 60.

Elaboración del solvente eutéctico (Li *et al.*, 2022)

El cloruro de colina se utilizó como aceptor de enlaces hidrógeno (HBA) y el glicerol como donador de enlaces de hidrógeno (HBD), en una relación molar 1:2 éstos se mezclaron en un vaso de precipitado cubierto por la parte superior con papel ParaFilm, con agitación magnética y en baño de agua a temperatura entre 60°C - 70°C durante 10 minutos hasta la formación de un líquido transparente (Li *et al.*, 2022). Posterior a ello, se agregó el 20% de agua al volumen final para disminuir la viscosidad.

Análisis fisicoquímico del solvente eutéctico

pH, viscosidad y densidad

El pH se tomó en un potenciómetro “Conductronic”, la viscosidad se midió en un reómetro MCR101 Physica (Anton Paar, México) a temperatura ambiente (25°C) a una corrida de 30 a 300 s por duplicado con 15 mediciones cada uno. La densidad (ρ), se determinó con el peso del volumen seleccionado del DES y aplicando la fórmula $\rho = \frac{m}{v}$. Donde (m) es la masa y (v) el volumen.

Obtención de los extractos con solvente etanólico y solvente eutéctico

Maceración dinámica

El extracto se preparó al 10% (p/v), tanto para el solvente etanólico como para el solvente eutéctico en un agitador orbital “Thermo Scientific” a 120 rpm durante 6 horas a 30°C. Se tomaron alícuotas de 1 mL a los 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas, se colocaron en microtubos, los cuales se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se guardó en microtubos cubiertos con papel aluminio, que se conservaron a 4°C hasta su posterior análisis.

Maceración asistida por ultrasonido

El extracto se preparó al 10% (p/v), tanto para el solvente etanólico como para el solvente eutéctico en un baño de ultrasonido “Bransonic” controlando la temperatura menor a los 40°C. Durante 6 horas se tomaron alícuotas de 1 mL a los 30 minutos, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas que se depositaron en microtubos los cuales se centrifugaron a 8000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se guardó en microtubos cubiertos con papel aluminio, que se conservaron a 4°C para su posterior análisis.

Análisis de los extractos en el contenido de antioxidantes: polifenoles y flavonoides totales

El método de Folin-Ciocalteu se utilizó para determinar el contenido de polifenoles totales y el método del tricloruro de aluminio (AlCl_3) se empleó para medir los flavonoides totales.

Método de Folin-Ciocalteu (Phuyal et al., 2020)

El contenido de polifenoles totales en los extractos etanólicos y los extractos con solvente eutéctico de las hojas de neem (*Azadirachta indica*), se determinó por el método Folin-Ciocalteu el cual consistió en la siguiente reacción: ácido gálico como estándar (1 mg/mL) (100 μL) + Folin-Ciocalteu (2N) (100 μL) + carbonato de sodio (7.5%) (360 μL) + agua (440 μL) = 1 mL. Entre cada adición de los reactivos, la muestra se llevó al vortex y se dejó en reposo durante 5 minutos. Se realizó una curva de calibración de ácido gálico (0.075, 0.1, 0.15, 0.2 y 0.3 mg/mL), las muestras se colocaron en una microplaca (n=3) con 250 μL en cada pocillo para leer la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV – Vis. Mientras que, para las muestras de los extractos etanólicos y los extractos con solvente eutéctico previamente obtenidos, se les realizó una dilución 1:2 y solo se sustituyó en la reacción el estándar de ácido gálico por las muestras de ambos extractos por separado. Los resultados se expresaron en equivalentes de ácido gálico.

Método de tricloruro de aluminio (AlCl_3) (Phuyal et al., 2020)

El contenido de flavonoides totales en los extractos etanólicos y los extractos con solvente eutéctico de hojas de neem (*Azadirachta indica*), se determinó por el método del tricloruro de aluminio (AlCl_3) el cual consistió en la siguiente reacción: quercetina como estándar (1 mg/mL) (60 μL) + nitrito de sodio (5%) (60 μL) + tricloruro de aluminio (10%) (60 μL) + hidróxido de sodio (1M) (400 μL) + metanol (99.9%) (420 μL) = 1 mL. Entre cada adición de los reactivos, la muestra se llevó al vortex y se dejó en reposo durante 5 minutos. Se realizó una curva de calibración de quercetina (0.1, 0.25, 0.50, 0.75 y 1 mg/mL) las muestras se colocaron en una microplaca (n=3) con 250 μL en cada pocillo para tomar la absorbancia a 365 nm en un espectrofotómetro UV – Vis. A las muestras de los extractos etanólicos y los extractos con solvente eutéctico previamente obtenidos, se les realizó una dilución 1:5 y se sustituyó en la reacción el estándar de quercetina por las muestras de ambos extractos por separado. Los resultados se expresaron en equivalentes de quercetina.

Análisis estadístico de resultados

Se realizaron los análisis estadísticos correspondientes a la comparación de medias por la prueba de Tukey-ANOVA.

RESULTADOS

Pruebas fisicoquímicas del solvente eutéctico

pH, viscosidad y densidad

En la Tabla 1, se presentan los parámetros evaluados, el pH del solvente eutéctico (DES) es ligeramente ácido, influenciado por las interacciones entre sus componentes y los iones H^+ . Se evaluaron la viscosidad y densidad del solvente eutéctico puro (cloruro de colina y glicerol en relación 1:2), el mismo solvente con 20% de agua y el glicerol a temperatura ambiente. El glicerol resultó ser

el más viscoso y denso debido a sus fuertes enlaces de hidrógeno. El solvente eutéctico puro mostró viscosidad y densidad moderadas, reducidas por interacciones iónicas y diferencias moleculares. La adición de agua disminuyó significativamente estos parámetros, actuando como diluyente y facilitando el movimiento molecular. Esto subraya la influencia de la composición y las interacciones moleculares en las propiedades físicas y químicas de los solventes.

Tabla 1. Pruebas fisicoquímicas del solvente eutéctico (DES)

Muestra	pH	Viscosidad (Pa·s)	Densidad (g/mL)
DES (cloruro de colina y glicerol 1:2)	6	0.294	1.165
DES (cloruro de colina y glicerol 1:2 con 20% agua)	6	0.040	1.114
Glicerol	6	0.753	1.207

Contenido de polifenoles totales

En la Figura 1, se presenta el contenido de polifenoles totales expresado en miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de muestra en peso seco (mg/g), entre los extractos etanólicos (E-DIN) y los extractos con solvente eutéctico (DES-DIN) obtenidos por maceración dinámica comparados con los extractos etanólicos (E-UL) y los extractos con solvente eutéctico (DES-UL) elaborados por maceración asistida por ultrasonido durante seis horas. Por grupo no se presentaron diferencias significativas por la prueba de Tukey-ANOVA ($p < 0.05$). Sin embargo, en los extractos obtenidos por maceración dinámica se observó 3 veces más de equivalentes de ácido gálico para los E-DIN con respecto a los DES-DIN a la media hora, mientras que a la hora seis el incremento fue de 2.3 veces. Por otro lado, en los extractos obtenidos por ultrasonido, el incremento fue continuo durante las seis horas del muestreo, tanto para los DES-UL y los E-UL. Aunque los equivalentes de ácido gálico para los E-UL fue 1.5 veces mayor con respecto a los DES-UL a la hora seis del muestreo. El solvente etanólico fue más eficiente que el solvente eutéctico para la extracción de polifenoles totales por maceración dinámica.

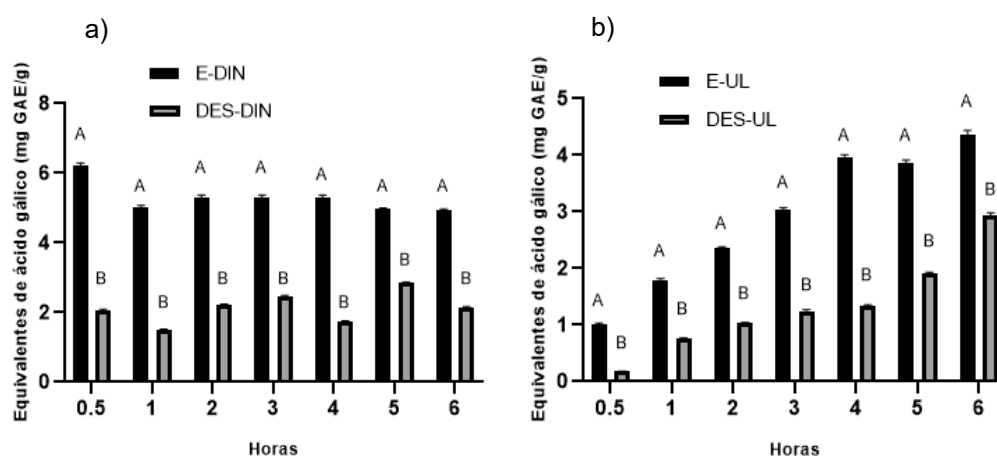


Figura 1. a) Equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g) de los extractos etanólicos (E-DIN) y los extractos con solvente eutéctico (DES-DIN) a diferentes tiempos por maceración dinámica, b) Equivalentes de ácido gálico (mg GAE/g) de los extractos etanólicos (E-UL) y los extractos con solvente eutéctico (DES-UL) a diferentes tiempos por ultrasonido. Cada barra representa la media $\pm$ desviación estándar ($n=6$). Las barras que no comparten la misma letra (A-B) son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Contenido total de flavonoides

En la Figura 2, se presenta el contenido de flavonoides totales expresado en miligramos equivalentes de quercetina (QE) por gramo de muestra en peso seco (mg/g), entre los extractos etanólicos (E-DIN) y los extractos con solvente eutéctico (DES-DIN) preparados por maceración dinámica comparados con los extractos etanólicos (E-UL) y los extractos con solvente eutéctico (DES-UL) obtenidos por ultrasonido durante seis horas. Por grupo no se presentaron diferencias significativas por la prueba de Tukey-ANOVA ($p < 0.05$). En los extractos obtenidos por maceración dinámica se observó 3.9 veces más de equivalentes de quercetina para los DES-DIN con respecto a los E-DIN a la media hora, mientras que a la hora seis el incremento fue de 5 veces. Por otra parte, en los extractos elaborados por maceración asistida por ultrasonido los equivalentes de quercetina para los DES-UL fueron 5.2 veces más con respecto a los E-UL a la hora seis. Cabe mencionar, que los extractos etanólicos generados tanto por la maceración dinámica como la maceración asistida por ultrasonido los equivalentes de quercetina se mantuvieron, prácticamente, sin cambio durante las seis horas del proceso debido a un error técnico de agitación, por lo cual es necesario su repetición. Considerando esta información, el solvente eutéctico fue el más eficiente que el solvente etanólico para la extracción de flavonoides totales por maceración dinámica.

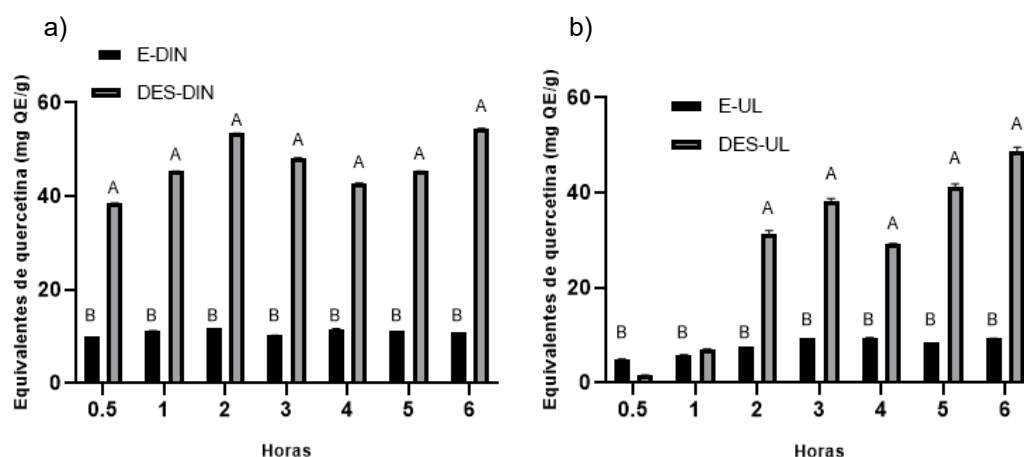


Figura 2. a) Equivalentes de quercetina (mg QE/g) de los extractos etanólicos (E-DIN) y los extractos con solvente eutéctico (DES-DIN) a diferentes tiempos por maceración dinámica, b) Equivalentes de quercetina (mg QE/g) de los extractos etanólicos (E-UL) y los extractos con solvente eutéctico (DES-UL) a diferentes tiempos por ultrasonido. Cada barra representa la media $\pm$ la desviación estándar ($n=6$). Las barras que no comparten la misma letra (A-B) son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

Finalmente es posible determinar que el solvente eutéctico fue el más eficiente para la extracción de flavonoides, mientras que el solvente etanólico lo fue para la extracción de polifenoles, de tal manera que los solventes eutécticos son alternativas verdes prometedoras, sin embargo, se requiere más investigación para comprender completamente su eficiencia y aplicabilidad en comparación con los solventes convencionales. Por su parte, las técnicas de extracción por maceración dinámica tuvieron mayor eficacia para polifenoles y flavonoides totales en comparación con la asistida por ultrasonido, sin embargo, la diferencia no fue significativa y se puede considerar que la extracción asistida por ultrasonido es una técnica emergente eficiente para la extracción de metabolitos secundarios.

BIBLIOGRAFÍA

1. Armenta, S., Garrigues, S., Esteve-Turrillas, F. A., & de la Guardia, M. (2019). Green extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 248-253.
2. Batra, N., Kumar, V. E., Nambiar, R., De Souza, C., Yuen, A., Le, U., Verma, R., Ghosh, P. M., & Vinall, R. L. (2022). Exploring the therapeutic potential of Neem (*Azadirachta Indica*) for the treatment of prostate cancer: a literature review. *Annals of translational medicine*, 10(13), 754. <https://doi.org/10.21037/atm-22-94>
3. Heyman, L., Houri-Haddad, Y., Heyman, S. N., Ginsburg, I., Gleitman, Y., & Feuerstein, O. (2017). Combined antioxidant effects of Neem extract, bacteria, red blood cells and Lysozyme: possible relation to periodontal disease. *BMC*, 17(1), 399. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1900-3>
4. Jiménez, L. A., Basilio, J. (3 de febrero de 2022). Disolventes eutécticos profundos: un nuevo enfoque a la química de productos naturales (parte I). CONACYT. <https://www.ciad.mx/disolventes-eutecticos-profundos-un-nuevo-enfoque-a-la-quimica-de-productos-naturales-parte-i/>
5. Li, Z., & Li, Q. (2022). Ultrasonic-Assisted Efficient Extraction of Coumarins from *Peucedanum decursivum* (Miq.) Maxim Using Deep Eutectic Solvents Combined with an Enzyme Pretreatment. *Molecules* (Basel, Switzerland), 27(17), 5715. <https://doi.org/10.3390/molecules27175715>
6. Phuyal, N., Jha, P. K., Raturi, P. P., & Rajbhandary, S. (2020). Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activities of Fruit, Seed, and Bark Extracts of *Zanthoxylum armatum* DC. *TheScientificWorldJournal*, 2020, 8780704. <https://doi.org/10.1155/2020/8780704>
7. Pijoan, M. (2004). El neem: la "farmacia de la aldea". *Offarm: farmacia y sociedad*, 23(5), 128-133.
8. Plastiras, O. E., Andreasidou, E., & Samanidou, V. (2020). Microextraction Techniques with Deep Eutectic Solvents. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(24), 6026. <https://doi.org/10.3390/molecules25246026>
9. Pollini, L., Cossignani, L., Juan, C., & Mañes, J. (2021). Extraction of Phenolic Compounds from Fresh Apple Pomace by Different Non-Conventional Techniques. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(14), 4272. <https://doi.org/10.3390/molecules26144272>
10. Sarah, R., Tabassum, B., Idrees, N., & Hussain, M. K. (2019). Bio-active compounds isolated from neem tree and their applications. *Natural Bio-active Compounds: Volume 1: Production and Applications*, 509-528.
11. Sarkar, S., Singh, R. P., & Bhattacharya, G. (2021). Exploring the role of *Azadirachta indica* (neem) and its active compounds in the regulation of biological pathways: an update on molecular approach. *3 Biotech*, 11(4), 178. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02745-4>
12. Suttiarporn, P., & Choommongkol, V. (2020). Microwave-Assisted Improved Extraction and Purification of Anticancer Nimbolide from *Azadirachta indica* (Neem) Leaves. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(12), 2913. <https://doi.org/10.3390/molecules25122913>
13. Utkarsh U. Bhamare, Yogesh S. Mali, Azam Z. Shaikh. *Neem: As a Natural Medicine*. *Res. J. Pharmacognosy and Phytochem.* 2020; 12(4):245-255. doi: 10.5958/0975-4385.2020.00041.2
14. Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

EFFECTO DE LAS ETAPAS DE GERMINACIÓN SOBRE EL COLOR DE LAS SEMILLAS DE LENTEJA VERDE (*LENS CULINARIS* M.)

Ana Karen Manríquez Álvarez^{*1}, Yuliza Guadalupe Morales Herrejón¹, Liliana Márquez Benavides², Consuelo de Jesús Cortes Penagos¹, Berenice Yahuaca Juárez¹

¹Laboratorio de Biotecnología "M.C. Víctor M. Rodríguez Alcocer" de la Facultad de Químico Farmacobiología, ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tzintzuntzan 173, Matamoros, 58280 Morelia Michoacán
^{*}1825503e@umich.mx

RESUMEN

La lenteja verde (*Lens culinaris* M.), representa un cultivo con alto valor nutricional. Habitualmente son consumidas como menestras a través de un proceso de cocción por ebullición directa. Existen otras alternativas de transformación en la legumbre que pueden mejorar sus propiedades físicas y nutricionales, entre ellos destaca la germinación, proceso que ocurre cuando el embrión dentro de la semilla comienza a crecer. Para iniciar la germinación se comienza con el remojo o imbibición de la semilla, que al absorber agua activa sistemas enzimáticos que inician dicho proceso y concluye cuando la radícula se alarga. En ambientes controlados, se considera que la germinación ha ocurrido una vez que la radícula ha roto las cubiertas externas de la semilla, marcando un cambio fisiológico. El proceso de germinación varía con ciertos factores como temperatura, humedad y variedad de semillas. En condiciones óptimas puede ir de los 3 a los 9 días. Durante el proceso germinativo se activan una serie de enzimas, que descomponen los nutrientes almacenados en la semilla para alimentar el crecimiento de la planta. Esto da parte a la liberación de pigmentos y compuestos bioactivos que influyen en el color de la plántula, al igual que en las matrices alimentarias derivadas de estos germinados como las harinas. El objetivo de la investigación fue evaluar los cambios de color de los germinados de lenteja y en harinas de lenteja germinada. El material de estudio fue lenteja verde (*Lens culinaris* M.). Las lentejas se llevaron a imbibición en agua por 24 h a 23.5°C, posteriormente se llevó a una cámara ambiental a una temperatura de 23 ± 4°C, los tiempos de germinación fueron 2, 4, 6 y 8 días. En los días 0, 2 y 8 de germinación se registró el color de la lenteja germinada. Posteriormente cada germinado se deshidrató a 55°C/12 h, se pulverizaron y empacaron al vacío. El color de las harinas de lentejas germinadas se determinó con un colorímetro FRU® y se obtuvo el valor de Luminosidad (L), ángulo de matiz (AM) e índice de saturación (IS). Los resultados indican que no hubo cambio en el color de los germinados a los 2 y 8 días y son comparables significativamente con respecto al control (semilla de lenteja). En referencia a las harinas de los germinados de 2 y 4 días se obtuvieron los valores más altos de (L) (89.08 - 89.06), sin embargo, no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con el control (harina de semilla de lenteja) (90.43). La harina de lenteja control presentó el mayor AM (29.97°) seguido del germinado de 6 días (18.76°). El valor promedio de IS para la muestra de harina de lenteja control fue de (83.41), obteniendo promedios similares en las harinas germinadas. Finalmente, la coloración de la harina de lenteja germinada en los días 2, 4, 6 y 8 fue de tonalidad amarilla, siendo similares a la harina de lenteja y a los germinados de los días 2 y 8.

Palabras clave: (Imbibición, Germinación, Lenteja).

INTRODUCCIÓN

La lenteja (*Lens culinaris* M.) es una legumbre cultivada a nivel mundial, nutricionalmente importante por su alto contenido en proteínas, fibra y micronutrientes (Giannakoula *et al.*, 2012). Posee carbohidratos digeribles e indigeribles, al consumirse, los niveles de glucosa en sangre no aumenten y la sensación de saciedad es más larga. (Anuradha *et al.*, 2017). En México, se ha destinado un aproximado de 8,550 hectáreas para la producción de lentejas, siendo Michoacán el estado con la mayor producción (Sáen Reyes *et al.*, 2022). A pesar de ser una fuente rica en nutrientes como proteínas, fibra y minerales, también contiene compuestos que pueden dificultar su absorción en el organismo. Estos se conocen como compuestos antinutricionales.

Los compuestos antinutricionales son sustancias presentes de forma natural en las plantas, en las legumbres se generan como mecanismo de defensa de las plantas frente a situaciones adversas como estrés, ataques de plagas o para atraer a polinizadores (Kumar *et al.*, 2022). Entre los compuestos antinutricionales más comunes en las lentejas se encuentran los inhibidores de tripsina, estos impiden la acción de la tripsina, una enzima digestiva que descompone las proteínas. Las lectinas se unen a carbohidratos específicos en las células intestinales, interfiriendo con la absorción de nutrientes. Los fitatos se unen a minerales como el hierro, zinc y calcio, dificultando su absorción. Los taninos forman complejos con proteínas, reduciendo su digestibilidad. (Siddhuraju, P *et al.*, 2007).

Existen diversos métodos que pueden reducir significativamente la cantidad de compuestos antinutricionales en las lentejas, se basan en sus propiedades fisicoquímicas para ser inhibidos, disminuidos o eliminados, por ejemplo los taninos, el ácido fítico y los oligosacáridos, tienen la propiedad de ser solubles en agua, esta hidratación puede ir acompañada de sustancias salinas (NaCl o Ca(OH)_2) permitiendo disminuir aún más estos antinutricionales debido al potencial iónico de la solución, incrementa además la permeabilidad de la cascarrilla y los compuestos que son hidrosolubles y que pueden escindirse en medios alcalinos, lixivian de la semilla. En el caso de los inhibidores de proteasas se caracterizan por ser termolábiles y su actividad inhibitoria puede disminuir considerablemente con tratamientos térmicos (Sandra.,C, *et al.*, 2009). Entre los métodos más comunes destaca la aplicación de tratamientos térmicos, imbibición, fermentación y germinación.

La germinación es un proceso metabólico en el que la semilla pasa de un estado quiescente a una fase metabólica activa, responsable de proporcionar energía y nutrientes necesarios para el desarrollo de la nueva planta (Paucar Menacho *et al.*, 2010). Cuando las condiciones de suelo, humedad y temperatura son adecuadas para la semilla, comienza el proceso de germinación. Este proceso se divide en tres fases: hidratación, germinación y crecimiento.

En la fase de hidratación, se imbebe en agua la semilla seca hasta la hidratación de células y tejidos, se incrementa la actividad respiratoria y reacciones hidrolíticas. En la fase germinativa, se activa el metabolismo, dando lugar a las transformaciones necesarias para el desarrollo de la plántula, como la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, también se incrementan las actividades enzimáticas. Al final, la etapa de crecimiento se asocia a una elevada actividad metabólica ya que crece la radícula y el resto de los tejidos, incrementando la expansión celular. De esta manera concluye la germinación (Nonogaki Y, *et al.*, 2010).

La semilla de lenteja seca es marrón o marrón rojizo, por pigmentos como la antocianina y la melanina. Estos pigmentos actúan como protectores contra la luz solar y los patógenos; al absorber agua, la semilla se hincha y se ablanda. En esta etapa, se observa un ligero cambio de color hacia un tono más claro, debido a la dilución de los pigmentos y la reflexión de la luz dentro de la semilla hidratada. Cuando la radícula emerge de la semilla, el color de la semilla puede variar dependiendo de la variedad de lenteja. Algunas variedades presentan un tono marrón más oscuro en la zona de la radícula, mientras que otras muestran un tono rojizo o incluso anaranjado. En el proceso que la radícula se alarga y el hipocótilo (tallo embrionario) emerge, las hojas primarias comienzan a desarrollarse; el color de la semilla se vuelve más verde, debido a la síntesis de clorofila. La clorofila es el pigmento responsable del color verde de las plantas y es esencial para la fotosíntesis, el proceso por el cual las plantas utilizan la luz solar para producir energía. Las diferentes variedades de lentejas pueden presentar variaciones en el color de la semilla y en los patrones de cambio de color durante la germinación. La temperatura, la humedad y la luz pueden afectar la velocidad y la intensidad de los cambios de color en las semillas de lenteja durante la germinación. (Bewley, Harrington *et al.*, 2012; Kohler *et al.*, 2012; Pradhan & Bhardwaj, 2012)

Durante este proceso se activan enzimas amilolíticas, lipolíticas y proteolíticas que hidrolizan los compuestos de reserva de la semilla. Se producen modificaciones tales como la composición de carbohidratos solubles, afectando sobre la estructura de los polisacáridos, ya que el almidón se degrada a azúcares que son más fáciles de digerir (Martín-Cabrejas *et al.*, 2003; López-Amorós y *et al.*, 2006). La germinación puede reducir la cantidad de antinutrientes, los taninos disminuyen significativamente entre 47.86% y 59.40% y el ácido fítico entre 45.85 % y 73.76 % (R. A. Ghavidel *et al.*, 2007). Una forma de aprovechar el potencial de la germinación y el valor nutricional de las legumbres es desarrollando una harina a partir de los germinados de lenteja.

Al buscar alternativas para la elaboración de productos por parte del consumidor es fundamental tener en cuenta aspectos como aroma, tacto (manual y bucal), oído (tacto y durante la masticación), sabor y color. El cambio de color en las harinas germinadas no solo es un indicador visual de los cambios químicos y bioquímicos que han tenido lugar, sino que también puede proporcionar información sobre la calidad y las propiedades funcionales de la harina. El grado de cambio de color puede ser un indicador del tiempo de germinación. También se puede relacionar con la capacidad de retención de agua, la formación de gluten y la textura (Martínez-Villaluenga, *et al.*, 2018).

Objetivo.

El objetivo del trabajo de investigación fue evaluar los cambios de color de los germinados de lenteja y en harinas de lenteja germinada.

Material y métodos.

Material de estudio.

Semilla de lenteja verde (*Lens culinaris* M.) adquiridas en un mercado local de Morelia, Michoacán. Fueron trasladadas al Laboratorio de Biotecnología "M.C. Víctor Manuel Rodríguez Alcocer" de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH para su procesamiento y análisis.

Tratamiento de imbibición. 100 g de lenteja se colocaron en 500 ml de agua por 24 hrs a 24°C. Proceso de germinación. Terminado el tratamiento de imbibición se eliminó el agua y la semilla se llevó a una cámara ambiental a una temperatura de $23 \pm 4^\circ\text{C}$, los tiempos de germinación fueron 2, 4, 6 y 8 días.

Deshidratación. Una vez concluido el tiempo de germinación indicado para cada muestra, el germinado se retiró de la cámara ambiental y se llevó a deshidratación a $55^\circ\text{C}/12\text{h}$.

Molienda. Después de que la muestra se deshidrató se llevó a molienda para pulverizarla y obtener la harina de germinado de lenteja.

Determinación de color. Para la determinación de color de los germinados y la harina de lenteja germinada se utilizó un colorímetro FRU®. Primero se realizó la determinación de color para los germinados en fresco en los días 2 y 8 de germinación. Para las harinas obtenidas de los días 0, 2, 4, 6 y 8 de germinación el análisis se realizó por triplicado. Se colocó un porcentaje de cada muestra a analizar, en una caja petri con superficie y laterales blancos. Mediante el sistema CIE $L^* a^* b^*$ ubicando el lente sobre la muestra, se determinaron los valores de $L^* a^* b^*$, que fueron obtenidos de forma directa. El AM (Angulo de matiz) e IS (índice de saturación) se determinaron con base en las siguientes ecuaciones.

L^* = Luminosidad: Valores de luminosidad (Claridad u oscuridad).

a^* = Valores positivos (Rojo). Valores negativos (Verde).

b^* = Valores positivos (amarillo). Valores negativos (azul).

Índice de saturación. (IS)

$$\text{Angulo de matiz. (AM)} = \arctan \frac{a}{b}$$

Donde:

a^* , b^* son coordenadas de cromaticidad en el espacio de color.

Análisis estadístico.

Los datos para la determinación de color en los germinados de lenteja, así como en las harinas obtenidas, fueron analizados estadísticamente. Se usó el promedio $\pm$ el error estándar ($n=3$) por una prueba de Tukey ($p<0.05$). El análisis se llevó a cabo con el paquete estadístico JMP 11.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan resultados correspondientes al análisis de color de los germinados en los días 0, 2 y 8. El tiempo de germinación no influye significativamente en el color de los germinados a los 2 y 8 días ya que en el análisis colorimétrico realizado muestra que no hubo cambio de color con respecto a la muestra control (semilla de lenteja cruda). Sin embargo, puede apreciarse una disminución en L conforme avanza el tiempo de germinación, observándose el valor más bajo

significativamente a los 8 días. Este comportamiento está relacionado con una disminución en el IS y un aumento en el AM, aunque en este último no hay mayor diferencia entre el día 2 y 8 de germinación. Los AM en los germinados de lenteja corresponden a tonalidades amarillas.

Tabla 1. Determinación de los parámetros de color para los germinados de lenteja verde.

Germinado.	L	a	b	IS	AM
Control (Lenteja verde cruda)	57.03 ± 2.30 ^a	4.42 ± 1.12 ^a	23.32 ± 2.28 ^a	23.73 ± 2.34 ^a	79.29 ± 2.48 ^a
Día 2.	56.3 ± 2.95 ^a	2.76 ± 0.35 ^b	18.91 ± 0.96 ^b	19.11 ± 3.13 ^b	81.64 ± 0.67 ^a
Día 8.	51.14 ± 1.52 ^b	3.06 ± 1.39 ^{ab}	21.05 ± 2.66 ^{ab}	21.85 ± 3.32 ^{ab}	81.60 ± 4.11 ^a

Nota: Cada valor representa la media ± la desviación estándar de tres repeticiones de la misma muestra. Los valores con diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes con un $p \leq 0.005$.

Durante la germinación, ocurren cambios bioquímicos y estructurales que modifican la composición de pigmentos naturales en las semillas, principalmente antocianinas y carotenoides. El proceso germinativo de las lentejas modifica el color de las harinas derivadas de las mismas debido a la degradación de antocianinas y la síntesis de carotenoides. El porcentaje de degradación de antocianinas y la síntesis de carotenoides depende de factores, como la especie de lenteja, las condiciones de cultivo y el tiempo de germinación. El color final de la harina de lentejas germinadas depende del equilibrio entre la degradación de antocianinas y la síntesis de carotenoides. Si la degradación de antocianinas predomina, la harina tendrá un color más claro, a diferencia de si la síntesis de carotenoides predomina, la harina tendrá un color más intenso. (Stanley *et al.*, Yuan, 2019).

En el análisis de color de las harinas de los germinados de lenteja en diferentes etapas (Tabla 2) se observa que la germinación incrementa la L de la harina con respecto al control. Las harinas de los germinados de 2 y 4 días obtuvieron los valores más altos de (L) (89.08 - 89.06), sin embargo, no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con el control (90.43) a excepción del germinado de los días 6 y 8. El mismo comportamiento se observó en el AM, el valor se incrementa en las harinas de lenteja germinada, sin embargo, no hay diferencia entre los diferentes tiempos de germinación.

Tabla 2. Determinación de los parámetros de color para las muestras de harina de lenteja germinada.

Harina de lenteja germinada	L	a	b	IS	AM
Control (Lenteja verde cruda)	57.03 ± 2.30 ^a	4.42 ± 1.12 ^a	23.32 ± 2.28 ^a	23.73 ± 2.34 ^a	79.29 ± 2.48 ^b
Día 2.	89.08 ± 0.77 ^{ab}	1.35 ± 0.28 ^b	17.9 ± 0.69 ^b	17.95 ± 0.69 ^b	85.66 ± 0.91 ^{ab}
Día 4.	89.06 ± 1.09 ^{ab}	1.20 ± 0.21 ^b	17.92 ± 0.88 ^b	17.96 ± 0.89 ^b	86.17 ± 0.57 ^a
Día 6.	85.20 ± 3.16 ^{bc}	1.53 ± 0.33 ^b	18.69 ± 0.66 ^b	18.76 ± 0.68 ^b	85.86 ± 0.91 ^{ab}
Día 8.	84.20 ± 2.27 ^c	1.51 ± 0.07 ^b	17.49 ± 2.74 ^b	17.55 ± 2.74 ^b	85.00 ± 0.59 ^{ab}

Nota: Cada valor representa la media ± la desviación estándar de tres repeticiones de la misma muestra. Los valores con diferentes letras en la misma columna son significativamente diferentes con un $p \leq 0.005$.

Con respecto al IS, el valor disminuye significativamente al día 2 de germinación, permaneciendo sin diferencia hasta el día 6 y al día 8 se obtuvo el menor IS. Es importante mencionar que los valores de IS en harinas de germinado de lenteja son menores que en los germinados de lenteja, en tanto que el AM es mayor en las harinas de germinado de lenteja que en los germinados de lenteja. Los AM en harinas de germinado de lenteja corresponden al color amarillo en un ángulo mayor que los germinados de lenteja y con una menor saturación.

CONCLUSIÓN

La germinación promueve un cambio en el color de las semillas de lenteja, disminuye su saturación e incrementa su ángulo de matiz. En el caso de las harinas de germinado de lenteja, la temperatura de deshidratación y la molienda tienen implicaciones en los parámetros de color, promoviendo un cambio con respecto al germinado de lenteja. Se concluye que la coloración de la harina de lenteja germinada presenta una tonalidad amarilla, siendo similares a la harina control y a los germinados de los días 2 y 8. Estadísticamente no hubo un cambio significativo, pero numéricamente si se muestra una diferencia entre la harina control y las harinas germinadas.

REFERENCIAS

1. Alonso, R., Aguirre, A., Marzo, F. (2000). Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chem.*, 68, 159–165.
2. Anuradha Bhartiya R.S.P., Pradhuman Y., Lakshmi K., Mishra K.K., Aditya J.P. & Pattanayak A. (2017). Effect of dehulling, germination and cooking on nutrients, antinutrients, fatty acid composition and antioxidant properties in lentil (*Lens culinaris*).
3. Bewley, J. D., & Harrington, F. P. (2012). *Seeds: Physiology, development, and dormancy*. Springer Science & Business Media.
4. Ghavidel, R. A.; Prakash, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT-Food Sci. Technol.* 2007, 40, 1292- 1299.
5. Giannakoula, A. E., Ilias, F. I., Dragišić Maksimović, J., Maksimović, V. M., Zivanović, B. D. (2012). The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *J. Food Comp. Anal.*, 28, 46–53
6. Hamid Khazaei, M. S.-V. (2019). Seed Protein of Lentils: Current Status, Progress, and Food Applications. Canada: *Journal of Foods*
7. Kohler, S. D., Palladino, F., & Voelker, T. M. (2012). Desiccation tolerance in seeds: diversity, mechanisms, and engineering strategies. *Plant Science*, 204, 301-320.
8. Kumar, Y., Basu, S., Goswami, D., Devi, M., Shivhare, U. S., & Vishwakarma, R. K. (2022). Anti-nutritional compounds in pulses: Implications and alleviation methods. *Legume Science*, 4(2), e111.
9. Martín-Cabrejas, M. A. (2019). Legumes: An Overview. In M. Á. Martín-Cabrejas (Ed.), *Legumes: Nutritional Quality, Processing and Potential Health Benefits* (pp. 1–18). The Royal Society of Chemistry.
10. Nonogaki, H.; Bassel, G. W.; Bewley, J. D. Germination—still a mystery. *Plant Sci.* 2010, 179, 574-581.
11. Nutritional composition and processing of lentil (*Lens culinaris*). *Food Reviews International*, 19(1), 18-67).
12. Pradhan, S., & Bhardwaj, R. K. (2012). Physiological changes during germination and early seedling growth of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Legume Research*, 35(4), 308-312.
13. Sáenz Reyes, J. T., Muñoz Flores H. J., Ruiz Rivas M., Rueda Sánchez A., Castillo Quiroz D. & Castillo Reyes F. (2022). Diagnóstico del cultivo de lenteja en unidades de producción familiar en Michoacán. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 17: 3544.
14. Siddhuraju, P., Babu, U. R., & Makkar, H. P. S. (2007).
15. Siddhuraju, P., Mohan, P. S., Becker, K. (2002). Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food Chem.*, 79, 61–67.
16. Stanley, L., & Yuan, Y. W. (2019). Transcriptional Regulation of Carotenoid Biosynthesis in Plants: So Many Regulators, So Little Consensus. *Frontiers In Plant Science*, 10.
17. The role of fiber and antinutritional factors in legume seeds. *Food Research International*, 113, 291-309.)

IMPACTO DE LA TOXICIDAD DEL 2,4-DINITROFENOL SOBRE LA MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*: EVALUACIÓN DE LA SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO

Gerardo Solís González¹, Ana D'Ors de Blas², Alondra Alelie Cortés Téllez¹,
Felipe Eduardo Villegas Zuñiga¹ y María Carmen Bartolomé Camacho¹

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ²Universidad Complutense de Madrid.
gerardo.solis@umich.mx

RESUMEN

El 2,4-dinitrofenol (2,4-DNP), es un compuesto químico conocido por sus aplicaciones industriales y agrícolas que ha despertado preocupación debido a su potencial impacto en el medio ambiente acuático. En este estudio, se investigó el efecto del 2,4-DNP sobre *Chlorella vulgaris*, una microalga ampliamente distribuida en ecosistemas de agua dulce y una fuente vital de alimento y oxígeno en dichos entornos y con un alto valor comercial por su riqueza en Fe y Vitamina B12. El problema planteado fue evaluar cómo la exposición al 2,4-DNP afecta la supervivencia y el crecimiento de *Chlorella vulgaris*. A través de exposiciones controladas a 10, 25, 50, 75 y 100 mg L⁻¹, se determinaron valores importantes como la Concentración Inhibitoria del 50% (CI₅₀) y la Concentración No Observada de Efectos (NOEC). Los resultados revelaron una CI₅₀ de 36.22 mg L⁻¹ (24.09-52.60) para el 2,4-DNP sobre *Chlorella vulgaris*, lo que indica una concentración a la cual el crecimiento de la microalga se ve significativamente inhibido. Además, se estableció una NOEC de 6.45 mg L⁻¹, sugiriendo que concentraciones por debajo de este umbral no generaron efectos adversos observables en la microalga. Estos hallazgos adquieren relevancia en el contexto de los usos conocidos del 2,4-DNP, que incluyen su empleo como agente para la síntesis de pesticidas y herbicidas, así como en la fabricación de productos químicos industriales. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA), de acuerdo con la categorización de sustancias tóxicas para el ambiente acuático y acorde con los resultados obtenidos en este estudio, considera al 2,4-DNP dentro de la categoría III (10-100 mg L⁻¹) como una sustancia peligrosa para el ambiente acuático. En conclusión, este estudio resalta la sensibilidad de *Chlorella vulgaris* como bioindicador de alerta temprana al 2,4-DNP, además, existe un interés creciente en las investigaciones específicamente sobre *C. vulgaris*, para el desarrollo de la agroecología, como biocombustible y no solo como suplemento alimentario, lo que sugiere la necesidad de regulaciones efectivas para dar evidencia de la importancia de identificar los efectos de los contaminantes químicos en organismos clave para la salud y el equilibrio de los ecosistemas acuáticos, promoviendo así la conservación y el manejo sostenible de dichos entornos.

INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua por compuestos químicos derivados de actividades humanas representa una amenaza creciente para la salud pública y los ecosistemas acuáticos. Entre estos contaminantes, los nitrofenoles destacan por su uso extendido en la fabricación de medicamentos, tintes, pesticidas, conservantes para la madera y explosivos. Su elevada reactividad y resistencia a la descomposición biológica les permite persistir en el ambiente acuático, acumulándose en los organismos vivos y generando riesgos significativos para la salud (Rüzgar et al., 2023).

El 2,4-dinitrofenol (DNP), un tipo de nitrofenol, es particularmente preocupante debido a su toxicidad y capacidad para afectar procesos biológicos cruciales, como la formación de metahemoglobina y el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (Su, 2009; Murillo et al., 2011; Ramos et al., 2024). La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA) lo clasifica como un contaminante prioritario, alertando sobre su creciente uso y fácil adquisición a través de internet, donde se comercializa como un agente "quemador de grasa" (Gziut y Thomas, 2022).

El fitoplancton, utilizado como bioindicador, ofrece una herramienta valiosa para evaluar la presencia y los efectos de contaminantes como el DNP en los ecosistemas acuáticos. Estos organismos son

sensibles a cambios en la calidad del agua y pueden proporcionar datos cruciales sobre la toxicidad de sustancias específicas (Environmental Agency, 2008; García et al., 2017; Piontek et al., 2023).

Además, la contaminación acuática de origen antropogénico, exacerbada por el cambio climático, impone desafíos adicionales a los ecosistemas acuáticos. Las actividades humanas, como la urbanización, la agricultura y el desarrollo industrial, introducen una variedad de contaminantes en el medio acuático, desde fertilizantes y pesticidas hasta metales pesados y compuestos orgánicos (Chaudhry y Malik, 2017). La interacción de estos contaminantes con el material genético de los organismos acuáticos puede resultar en daños celulares y efectos sinérgicos peligrosos (Zhu et al., 2024).

El uso de bioindicadores en la monitorización ambiental es crucial para entender y mitigar los efectos de estos contaminantes. Los fitoindicadores, en particular, son efectivos debido a su sensibilidad a alteraciones químicas y su capacidad para acumular contaminantes, proporcionando así una evaluación integral de la calidad del agua y el estado de los ecosistemas (Bellinger y Sigeo, 2015; Skok y Breus, 2021).

En este contexto, las microalgas ofrecen una solución sostenible no solo para la bioremediación sino también como recurso en la biotecnología agrícola e industrial. Con sus beneficios nutricionales y potencial para mitigar el impacto ambiental, las microalgas son una alternativa prometedora para abordar los desafíos de la producción alimentaria y energética (Wijffels et al., 2013; Kusmayadi et al., 2021).

Este estudio se centra en el uso de fitoplancton como bioindicador para evaluar la toxicidad del 2,4-dinitrofenol (DNP) en ecosistemas acuáticos, proporcionando una visión crítica de los riesgos asociados y posibles estrategias de mitigación.

TEORÍA

Los nitrofenoles son empleados como elementos intermedios en la fabricación de medicamentos, tintes, pesticidas, conservantes para la madera y explosivos. Debido a su elevada reactividad y resistencia a la descomposición biológica, los fenoles se convierten en contaminantes habituales en entornos acuáticos, persistiendo y acumulándose en organismos vivos. Esta situación plantea un riesgo para la salud pública. (Rüzgar et al., 2023).

El 2,4-dinitrofenol (2,4-DNP) es un nitrofenol ampliamente utilizado en la fabricación de productos químicos, pero es altamente tóxico para los seres humanos y otros mamíferos debido a su capacidad para formar metahemoglobina y desacoplar la fosforilación oxidativa (Su, 2009; Murillo et al., 2011; Ramos et al., 2024).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA) lo considera un contaminante prioritario debido a su persistencia en el ambiente y ha dado su voz de alarma ya que su uso parece estar de nuevo en auge, especialmente gracias a la facilidad de la venta por internet, en donde se distribuye como una sustancia “quema grasa” (Gziut y Thomas, 2022).

Los bioindicadores como el fitoplancton son útiles para determinar las concentraciones letales del DNP en la red trófica, brindando información sobre la calidad ambiental y las condiciones de los organismos y ecosistemas (Environmental Agency, 2008; García et al., 2017; Piontek et al., 2023).

Contaminación acuática de origen antropogénico

La problemática de la contaminación del agua constituye una seria amenaza para la salud humana, la biota y los ecosistemas acuáticos. Esta situación se atribuye a múltiples actividades humanas, tales como la urbanización, la agricultura y el desarrollo industrial, las cuales generan y emiten diversos contaminantes al medio ambiente. Estos agentes contaminantes abarcan desde fertilizantes, pesticidas, y agroquímicos hasta residuos domésticos, aguas residuales, aceites,

metales pesados, elementos traza, compuestos orgánicos y contaminación biológica (Chaudhry y Malik, 2017).

Los elementos naturales y las sustancias contaminantes derivadas de la actividad humana en entornos acuáticos pueden entrelazarse con el material genético de los organismos acuáticos, generando daños celulares. La combinación de diversos contaminantes en el medio acuático puede dar lugar a sinergias peligrosas. Además, se anticipa que las alteraciones en el sistema climático tendrán consecuencias importantes a nivel mundial en los ecosistemas de agua dulce en los próximos años (Zhu et al., 2024).

El cambio climático conlleva un incremento de la temperatura, modificaciones en las condiciones atmosféricas e hidrológicas, así como cambios en la distribución de las especies. Estas transformaciones están perturbando la composición y la distribución de las comunidades ribereñas, impactando tanto en las poblaciones como en las interacciones dentro de los ecosistemas (Prakash, 2021).

Bioindicadores en el control ambiental

La disponibilidad de información sobre los efectos de las sustancias contaminantes es limitada, lo que complica la evaluación del nivel de riesgo. La vigilancia de parámetros ambientales es esencial para supervisar la contaminación y anticipar sus consecuencias, y los bioindicadores juegan un papel crucial en este proceso. Estos son organismos o comunidades que ofrecen datos sobre las condiciones físicas y químicas en un lugar específico. En el contexto de los cambios ambientales, los bioindicadores son considerados como señales de alerta temprana que reflejan el estado "saludable" de un sistema acuático (Bellinger y Sige, 2015; Skok y Breus, 2021).

Los bioindicadores utilizados en la monitorización ambiental permiten entender los mecanismos de acción de sustancias nocivas y determinar sus efectos tóxicos en los organismos vivos (Ravera, 2001). Los organismos vegetales desempeñan un papel importante en sus hábitats naturales, suministrando oxígeno, controlando el movimiento de materia orgánica y manteniendo el equilibrio biológico del suelo (Manning et al., 2002).

Se emplean cada vez más fitoindicadores, que abarcan algas y cianobacterias, para evaluar la calidad de los ecosistemas, gracias a su sensibilidad a las alteraciones químicas en el entorno y su capacidad para acumular contaminantes. La composición y funcionamiento del fitoplancton ejerce un impacto significativo en los ciclos biogeoquímicos de elementos como el carbono, nitrógeno y fósforo. El cambio climático está transformando rápidamente la estructura de la comunidad fitoplanctónica, subrayando la urgencia de comprender su reorganización en este contexto (Chandel et al., 2023).

El fitoplancton destaca como un excelente sistema modelo gracias a su tamaño reducido, ciclos de generación breves, elevada abundancia y facilidad de manipulación en entornos de laboratorio (Yusuf, 2020).

Biotechnología del cultivo industrial de microalgas

La actividad agrícola tiene un impacto significativo en el medio ambiente, contribuyendo a las emisiones de gases de efecto invernadero y causando cambios drásticos en los ecosistemas naturales, erosión del suelo, eutrofización, lluvia ácida y cambio climático (Kusmayadi et al., 2021). En un mundo con creciente población, el sector agrícola necesita intensificar su actividad para satisfacer la demanda alimentaria, pero esto resulta en la destrucción de hábitats naturales y el uso insostenible de productos químicos (Kusmayadi et al., 2021; Roser et al., 2013).

Sin embargo, las microalgas ofrecen una posible solución sostenible como fuente de alimentos, materiales, productos químicos y combustibles (Wijffels et al., 2013). Son sumideros naturales de carbono y se pueden cosechar casi todo el año, lo que las hace atractivas desde el punto de vista comercial (Milledge, 2011).

Las microalgas tienen una composición bioquímica rica, que incluye aminoácidos esenciales, antioxidantes y otros nutrientes beneficiosos para la salud (Liu y Hu, 2013; Wu et al., 2010). Diferentes especies y cepas de microalgas, como *Chlorella* spp. y *Arthrospira* spp. (Espirulina), ofrecen una variedad de nutrientes, lo que las convierte en una opción interesante para la alimentación humana y animal (Niccolai et al., 2019).

Además, se ha investigado el uso de biomasa microalgal en productos alimentarios para mejorar sus cualidades sensoriales y propiedades nutritivas (Gouveia et al., 2007; Yaakob et al., 2014). El cultivo heterotrófico se considera una técnica prometedora para reducir costos y minimizar el impacto ambiental (da Silva y Reis, 2015).

En México, con su alta irradiación solar y temperaturas medias altas, se identificaron áreas con alto potencial de producción de microalgas (Lozano-García et al., 2019). Estas pueden ser una alternativa sostenible a la sobreexplotación de los recursos naturales y ayudar a abordar el dilema medioambiental de la alimentación y la energía.

Además, los compuestos nitrofenólicos, incluyendo los nitrofenoles, son contaminantes presentes tanto en la atmósfera como en las aguas superficiales. Estos compuestos son tóxicos, persistentes y capaces de acumularse en los organismos, representando así un riesgo para la salud pública. Ciertos NACs (compuestos nitrofenólicos) se asocian con un aumento en el riesgo de cáncer y pueden actuar como contaminantes genotóxicos y mutagénicos (Xiong et al., 2019).

Chlorella vulgaris

Chlorella vulgaris es una microalga verde ampliamente estudiada por sus diversas propiedades beneficiosas y aplicaciones en diferentes campos. Uno de ellos es el campo nutricional, ya que *C. vulgaris* contiene entre 50-60% de proteínas de alta calidad, incluyendo todos los aminoácidos esenciales. Es rica en vitaminas (A, B, C, E y K) y minerales esenciales como hierro, calcio, magnesio y potasio. Además, posee una buena porción de ácidos grasos omega-3 y omega-6 (Becker, 2007; Gouveia y Oliveira, 2009).

Se ha estudiado, además, que contiene una alta concentración de clorofila, la cual tiene efectos desintoxicantes y antioxidantes, junto con la presencia de luteína y zeaxantina que, además de ser potentes antioxidantes, protegen contra el daño celular (Otsuki et al., 2008; Li et al., 2011).

Entre otras propiedades, también se ha encontrado que *C. vulgaris* podría ser utilizada para la producción de biodiesel debido a su alto contenido de lípidos, además de ser eficaz en la biorremediación de agua residuales y en la captura de CO₂ (Chisti, 2007; Brennan y Owende, 2010).

Chlorella vulgaris es un bioindicador eficaz debido a su sensibilidad a diversos contaminantes y su capacidad para reflejar cambios en la calidad ambiental. Su uso en la detección de metales pesados, pesticidas, herbicidas y otros compuestos tóxicos la convierte en una herramienta valiosa para el monitoreo y la evaluación de la salud de los ecosistemas acuáticos (Patel y Kan, 2013; Morin et al., 2014).

PARTE EXPERIMENTAL

Sustancia de ensayo

Para el estudio de toxicidad se usó 2,4-dinitrofenol (DNP), con una pureza de $\geq 97\%$ (Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen, Alemania). El compuesto fue disuelto en agua destilada y desionizada.

Material biológico

La cepa de *Chlorella vulgaris* fue obtenida de la colección de microalgas del Laboratorio de Toxicología Ambiental de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Obtención y mantenimiento de las poblaciones

La cepa de *C. vulgaris* fue sometida a crecimiento axénico en frascos de cultivo (Grainer, Bio-One, Longwood, NJ, USA) con 20 mL de medio de cultivo BG-11. Los cultivos se mantuvieron a 21 °C bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12h cada uno y una fuente de luz a una intensidad de 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en un rango de banda entre 400 y 700 nm.

Ensayos de toxicidad

Se expusieron las microalgas a diferentes concentraciones de 2,4-DNP en réplicas múltiples por cada concentración y un control sin 2,4-DNP. Fueron utilizadas células de *C. vulgaris* a una concentración de 10^4 cel mL^{-1} y en un volumen final de 10 mL fueron incluidas en tubos estériles de poliestireno de doble cierre (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) para su posterior exposición al contaminante y uno como ensayo control negativo en el que las células se expusieron únicamente al medio de cultivo BG-11. El conjunto de ensayo se incubó en una cámara climatizada (Velp Scientifica SLR, Usmate, Italia) ajustada a una temperatura de 21 °C y con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h, durante un tiempo de 72 h.

Análisis estadístico de los resultados

Los valores de la Cl_{50} y NOEC fueron obtenidos por regresión lineal a través de la relación de Concentración-Respuesta. La prueba de distribución normal de los datos se realizó a través de la prueba D'Agostino-Pearson por el sistema estadístico Graphpad Prism v7.0 (Graph-Pad Software Inc., USA) basada en la prueba de normalidad por D'Agostino y Pearson, (1973).

RESULTADOS

Se obtuvo una $\text{Cl}_{50(72)}$ del 2,4-dinitrofenol (2,4-DNP) de 36.22 mg L^{-1} (24.09 – 52.60) y una 72h-NOEC de 6.45 mg L^{-1} sobre *Chlorella vulgaris* tras 72 horas de exposición, lo que lo incluye dentro de la Categoría III como una sustancia ligeramente tóxica para el ambiente acuático de acuerdo con la clasificación propuesta por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US-EPA) para la categorización de los contaminantes acuáticos por toxicidad aguda. Los valores de los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1 y la categorización propuesta por la US-EPA, se muestra en la Tabla 2.

Tabla 1. Valores de la Cl_{50} y 72-NOEC del 2,4-DNP sobre *Chlorella vulgaris* tras 72 horas de exposición

Parámetro	[] mg L^{-1} (L. C. 95 %)
72h-NOEC	6.45
$\text{Cl}_{50(72)}$	36.22 (24.09 – 52.60)

Tabla 2. Categorización propuesta por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos para los contaminantes acuáticos.

$\text{CL}_{50} \text{ mg L}^{-1}$	Categoría
< 1	I: Sustancia muy tóxica para el ambiente acuático
1 – 10	II: Sustancia tóxica para el ambiente acuático
10 – 100	III: Sustancia ligeramente tóxica para el ambiente acuático
> 100	IV: Sustancia no tóxica para el ambiente acuático

El efecto de la exposición aguda de *Chlorella vulgaris* con el 2,4-dinitrofenol resultó en una respuesta ligeramente tóxica tras 72 h de exposición, lo cual se observa en la Figura 1, donde es posible apreciar la curva concentración-respuesta, lo cual indica que a mayor concentración del 2,4-DNP sobre la microalga *C. vulgaris*, mayor es la letalidad.

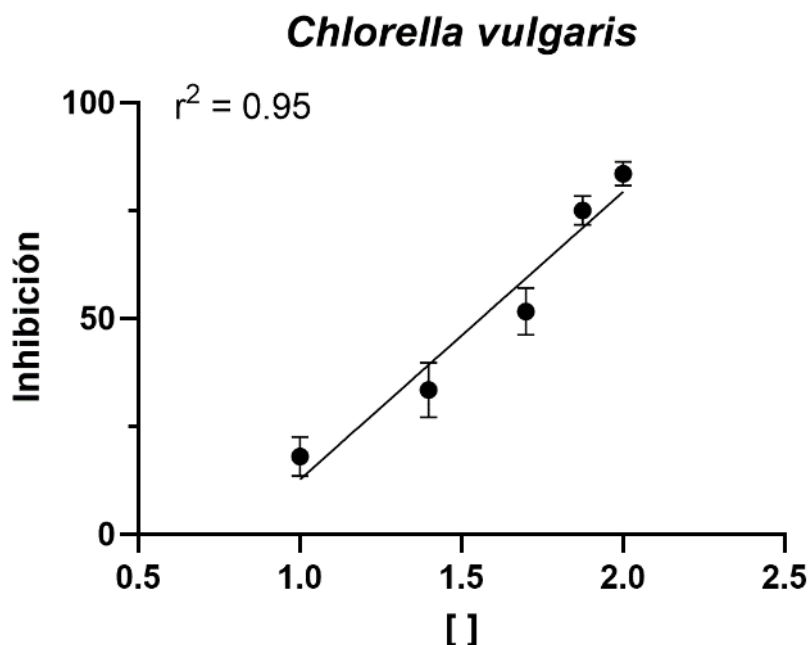


Figura 7. Curva concentración-respuesta de la exposición aguda de *Chlorella vulgaris* con el 2,4-DNP.

Discusión

La investigación sobre el impacto del 2,4-DNP en el fitoplancton ha arrojado resultados significativos que requieren una discusión más detallada. Algunos de los resultados expresados por otros autores se enuncian en la Tabla 3:

Tabla 3. Resumen de las CI_{50} de algunos estudios de toxicidad aguda del 2,4-DNP sobre algunas especies microalgales.

Bioindicador	CI_{50} mg L ⁻¹	Parámetro	Referencia
<i>Chlorella vulgaris</i>	86.53	Crecimiento poblacional	US-EPA, 1986
<i>Chlorella vulgaris</i>	20.25	Crecimiento poblacional	Sahinkaya y Dilek, 2009
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12.89	Crecimiento poblacional	Yan et al., 2005
<i>Chlorella vulgaris</i>	36.22	Crecimiento poblacional	Presente estudio

Los niveles de toxicidad varían entre el tipo de bioindicador, pero dentro de las algas verdes, *Scenedesmus* spp. presenta una mayor sensibilidad.

De acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA), y según los valores obtenidos de CI_{50} , el 2,4-DNP se engloba en la categoría III como moderadamente tóxico, lo cual solo indica cómo se ve afectada la reproducción de *Chlorella vulgaris* al enfrentarse al 2,4-DNP, pero no considera otros aspectos del metabolismo celular como alteraciones en el proceso fotosintético.

C. vulgaris es eficaz para los ensayos de toxicidad aguda, particularmente útil para detectar toxicidades en etapas tempranas y a bajas concentraciones. Sin embargo, su uso debe complementarse con otros bioindicadores para obtener una visión más completa del impacto ambiental de los contaminantes.

CONCLUSIONES

El 2,4-DNP se comportó como un compuesto ligeramente tóxico sobre las poblaciones de *Chlorella vulgaris*, atendiendo a la caracterización del riesgo ambiental propuesta por la US-EPA.

Esto resalta la sensibilidad de *C. vulgaris* como bioindicador de alerta temprana y su interés creciente en la investigación para el desarrollo de la agroecología y biocombustibles y no solo como suplemento alimentario.

BIBLIOGRAFÍA

1. Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207-210. doi:10.1016/j.biotechadv.2006.11.002
2. Bellinger, E. G., & Sigee, D. C. (2015). *Freshwater Algae: Identification, Enumeration and Use as Bioindicators*. John Wiley & Sons.
3. Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557-577. doi:10.1016/j.rser.2009.10.009
4. Chaudhry, F. N., & Malik, M. F. (2017). Factors affecting water pollution: a review. *J. Ecosyst. Ecography*, 7(1), 225-231. 10.4172/2157-7625.1000225
5. Chandel, P., Mahajan, D., Thakur, K., Kumar, R., Kumar, S., Brar, B., ... & Sharma, A. K. (2023). A review on plankton as a bioindicator: A promising tool for monitoring water quality. *World Water Policy*. <https://doi.org/10.1002/wwp2.12137>
6. Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294-306. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
7. da Silva, T. L., & Reis, A. (2015). "Heterotrophic cultivation of microalgae: production of metabolites of commercial interest." In *Handbook of Microalgal Culture*, pp. 331-343. John Wiley & Sons.
8. D'Agostino, R., Pearson, E. S. (1973). Test for Departure from Normality. *Empirical Results for the Distributions of b2 and $\sqrt{b1}$* . *Biometrika* 60, 613-622.
9. Gouveia, L., et al. (2007). "Microalgae as a raw material for biofuels production." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(5), 537-547.
10. Gouveia, L., & Oliveira, A. C. (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36, 269-274. doi:10.1007/s10295-008-0495-6
11. Gziut, T. & Thomas, S. (2022) Tendencias internacionales en exposiciones humanas sistémicas a 2,4 dinitrofenol reportadas a centros de toxicología, *Clinical Toxicology*, 60:5, 628-631, DOI: 10.1080/15563650.2021.2005797
12. Kusmayadi, A., et al. (2021). "Impacts of Agriculture on Climate Change and Mitigation Strategies." In *Green Technologies for Sustainable Water Management*, pp. 3-25. Springer.
13. Li, Y., Liu, J., & Liu, T. (2011). Advances in the Production of Functional Ingredients from Microalgae. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 391-400. doi:10.1016/j.jff.2011.07.001
14. Liu, J., & Hu, Q. (2013). "Chlorella: Industrial production of cell mass and chemicals." In *Handbook of Microalgal Culture*, pp. 173-190. John Wiley & Sons.
15. Lozano-García, J. A., et al. (2019). "Mapping of Microalgae Potential Production in Mexico Using Geographic Information Systems." *Energies*, 12(15), 2879.
16. Manning, D. W., Rosemond, A. D., & Gulis, V. (2002). Role of Detritivores in Leaf Litter Decomposition and Nutrient Cycling in Streams. *Freshwater Biology*, 47(3), 495-513.
17. Milledge, J. J. (2011). "Commercial application of microalgae other than as biofuels: A brief review." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 10(1), 31-41.
18. Morin, N., et al. (2014). Assessment of cadmium bioaccumulation and toxicity in the freshwater microalga *Chlorella vulgaris*: Cell membrane damage and response to oxidative stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 110, 17-24. doi:10.1016/j.ecoenv.2014.08.012
19. Murillo, S., Ruiz-Muñoz, J. F., & Vicente, J. A. (2011). Synthesis and applications of nitrophenols. *Chemical Society Reviews*, 40(5), 2593-2626.
20. Niccolai, A., et al. (2019). "Microalgae as food ingredients." In *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*, pp. 207-231. CRC Press

21. Otsuki, K., Watanabe, M., Suzuki, K., & Deguchi, Y. (2008). Antioxidant capacities of extracts from green, red and brown algae. *Fisheries Science*, 74, 1079-1081. doi:10.1111/j.1444-2906.2008.01631.x
22. Patel, S., & Kan, H. (2013). Role of *Chlorella vulgaris* in sustaining aquatic ecosystem and its effect on water quality assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(6), 3487-3492. doi:10.1007/s11356-012-1260-8
23. Piontek, M., Czyżewska, W., & Mazur-Marzec, H. (2023). Effects of harmful cyanobacteria on drinking water source quality and ecosystems. *Toxins*, 15(12), 703. <https://doi.org/10.3390/toxins15120703>
24. Prakash, S. (2021). Impact of Climate change on Aquatic Ecosystem and its Biodiversity: An overview. *International Journal of Biological Innovations*, 3(2). <https://doi.org/10.46505/IJBI.2021.3210>
25. Ramos, R. L., Moreira, V. R., & Amaral, M. C. S. (2024). Phenolic compounds in water: Review of occurrence, risk, and retention by membrane technology. *Journal of Environmental Management*, 351, 119772. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119772>
26. Roser, M., et al. (2013). "World Population Growth." *Our World in Data*. Retrieved from: <https://ourworldindata.org/world-population-growth>.
27. Rüzgar, A., Karataş, Y., & Gülcan, M. (2023). Synthesis and characterization of PdO nanoparticles supported over hydroxyapatite nanospheres for potential application as a promising catalyst for nitrophenol reduction. *Heliyon*, 9(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21517>
28. Skok, S., & Breus, D. (2021). Bioindication Assessment of Drinking Water Toxicity in Large Cities of Ukraine. <http://hdl.handle.net/123456789/7938>
29. Su, H. (2009). Removal of nitrophenols from water by adsorption—a review. *Journal of Hazardous Materials*, 166(1), 1-11.
30. US Environmental Protection Agency (EPA). (n.d.). Nitrophenols (Priority Pollutant). Recuperado de <https://www.epa.gov/priority-pollutants-primary-standard-table#nitrophenols>.
31. Wijffels, R. H., et al. (2013). "Potential of Microalgae for Protein Production." In *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*, pp. 173-190. Woodhead Publishing.
32. Wu, J. T., et al. (2010). "Carotenoids in microalgae." In *Carotenoids: Nutrition, Analysis and Technology*, pp. 223-257. Springer.
33. Xiong, Z., Zhang, H., Zhang, W., Lai, B., & Yao, G. (2019). Removal of nitrophenols and their derivatives by chemical redox: a review. *Chemical Engineering Journal*, 359, 13-31. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.111>
34. Yaakob, Z., et al. (2014). "An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture." *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 21(1), 6.
35. Yusuf, Z. H. (2020). Phytoplankton as bioindicators of water quality in Nasarawa reservoir, Katsina State Nigeria. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 32. <https://doi.org/10.1590/S2179-975X3319>
36. Zhu, M., Wang, J., Zhang, J., & Xing, Z. (2024). Responsibility-sharing and compensation scheme of transboundary water pollution embodied in China's inter-provincial trade: a perspective from economic value capturing. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-31708-w>

REMOCIÓN DE PARACETAMOL EN AGUAS RESIDUALES CON *EPIPREMNUM AUREUM* (TELÉFONO)

Mónica Elías Ramírez, Carolina Huerta Martínez, Luis Ramiro Caso Vargas

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
monica.elias@alumno.buap.mx; ramiro.caso@correo.buap.mx

RESUMEN

A nivel global se ha registrado la contaminación del agua por compuestos químicos de origen antropogénico. Los productos farmacéuticos son uno de los contaminantes principales que se encuentran en los cuerpos de agua. En México, los fármacos más vendidos son el naproxeno, el paracetamol y el diclofenaco, por lo que se ha reportado su presencia en distintos ambientes acuáticos con concentraciones de hasta 4,889 ng/L, 4,460 ng/L y 1,398 ng/L, respectivamente. Su presencia en los mantos acuíferos y su consumo indirecto puede generar graves daños a la salud humana y a los ecosistemas. La remoción de contaminantes por medio de plantas es una solución eficaz, sencilla y económica para esta problemática. *Epipremnum aureum* es una planta que ha demostrado ser capaz de remover efectivamente la contaminación del aire en espacios cerrados, particularmente en la remoción de compuestos orgánicos volátiles como el benceno, formaldehído y tolueno. Este modelo biológico fue sometido durante tres meses a una solución de agua de grifo y paracetamol con una concentración inicial de $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. El control negativo fue únicamente agua de grifo y el control positivo solución de paracetamol a una concentración de $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Semanalmente se registró la temperatura, el pH y la conductividad eléctrica. Se realizaron tres mediciones de las concentraciones de paracetamol utilizando un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 242 nm, que corresponde a la absorbancia del paracetamol. Se construyó una curva de calibración con soluciones de paracetamol de concentraciones conocidas. El experimento se realizó por triplicado. Resultados: No se registraron cambios significativos en la temperatura, el pH y la conductividad eléctrica del experimento, del grupo control negativo y grupo control positivo. En promedio se registró una concentración de $0.005 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ en el grupo control negativo durante todo el experimento. La concentración de paracetamol del grupo control positivo disminuyó durante el experimento hasta una concentración final de $0.012 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, se observó la oxidación del compuesto (fotodesintegración). En promedio, la concentración final del experimento fue de $0.008 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. *E. aureum* demostró ser efectiva en la remoción de paracetamol, es una planta fácil de mantener que se mantuvo creciendo y produciendo nuevas raíces durante el experimento, demostró ser un organismo resiliente y efectivo en la fitorremediación.

INTRODUCCIÓN

La contaminación en los cuerpos de agua debido a los contaminantes emergentes no ha dejado de aumentar en los últimos años; las industrias doméstica, ganadera, agrícola, industrial, hospitalaria y farmacéutica son las principales contribuyentes a este problema (Encarnação et al., 2020). Se ha reportado que los fármacos de uso humano y veterinario son uno de los agentes contaminantes más abundantes en el agua: los antiinflamatorios, los antibióticos y los analgésicos son los medicamentos comúnmente detectados (Gupta et al., 2024; Ortúzar et al., 2022) y, al no contar con tecnología de tratamiento de aguas que garantice efluentes de alta calidad, el agua puede contener fármacos o metabolitos derivados de estos, lo cual tiene implicaciones negativas en la salud pública y afectan significativamente a los ecosistemas (Izzudin et al., 2022).

Entre las rutas de contaminación más comunes de los sistemas acuáticos se encuentra la metabolización y excreción por orina y heces de sustancias activas o metabolitos de fármacos en los sistemas de aguas residuales, posteriormente este se desplaza hasta llegar a mantos acuíferos, ambientes marinos, cuerpos de agua dulce y salada (Seller et al., 2020).

En México, los fármacos más vendidos son el naproxeno, el paracetamol y el diclofenaco, por lo que se ha reportado su presencia en distintos ambientes acuáticos con concentraciones de hasta 4,889 ng/L, 4,460 ng/L y 1,398 ng/L, respectivamente (Rivera-Jaimes et al., 2018).

El paracetamol, también conocido como acetaminofén, es un compuesto analgésico y antipirético utilizado para fines terapéuticos que, en México, puede ser adquirido sin receta. Es metabolizado en con eficiencia de cerca del 90% por el hígado a través del procesos de glucoronidación y es excretado por vía renal (Rivera-Jaimes et al., 2018); su metabolito N-acetil-para-benzoquinoneimina (NAPQI) se expulsa por medio de las heces y orina, volviéndose un compuesto tóxico persistente, por lo que el medio más común de transporte al medio ambiente es mediante aguas residuales.

En los últimos años se han implementado nuevas tecnologías, más allá de las técnicas fisicoquímicas convencionales, para eliminar a los fármacos y sus derivados del medio ambiente. Entre las nuevas técnicas destaca la fitorremediación, que es un método eficaz para remover los contaminantes o compuestos tóxicos presentes en el suelo y el agua utilizando las plantas (Agarwal, 2022; Alqahtani et al., 2023).

Epipremnum aureum, más conocida como “teléfono”, es una planta ornamental que forma parte de la familia *Araceae*, esta planta es endémica del sudeste asiático y Nueva Guinea, por lo que tiene un desarrollo óptimo en climas templados y tropicales. Esta planta ha demostrado, a través de diversos estudios científicos, remover efectivamente la contaminación del aire en espacios cerrados, particularmente de compuestos orgánicos volátiles como el benceno, formaldehído y tolueno (Kim et al., 2020; Li et al., 2023; Zuo et al., 2022). Así mismo ha demostrado ser eficiente en la eliminación de metales pesados como el plomo (Yan et al., 2020).

TEORÍA

El modelo biológico *Epipremnum aureum* reducirá la concentración del paracetamol en el agua. La relación de la planta con microorganismos como hongos y levaduras coadyuvará a la remoción de éste fármaco.

PARTE EXPERIMENTAL

Los ejemplares de *Epipremnum aureum* fueron obtenidos de un invernadero local. El tamaño de la parte aérea de la planta y sus raíces fueron aproximadamente los mismos entre los ejemplares. Las plantase fueron extraídas de la maceta, se limpiaron sus raíces y se pusieron en envases de vidrio. El paracetamol fue obtenido de una farmacia local en tabletas de 500mg.

Las plantas se separaron en dos grupos: el experimental, el control positivo. en todos ellos se emplearon 800 mL de agua de grifo como volumen final. Para el grupo experimental se colocó una planta de *E. aureum* a una concentración inicial de paracetamol de $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. El control positivo consistió en $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de paracetamol en agua. También se utilizó un control negativo que consistió solo la planta en 800 ml de agua de grifo.

Los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron: pH, conductividad eléctrica y temperatura. Se construyó una curva de calibración de paracetamol en agua a: 0.005, 0.011, 0.021, 0.042 y 0.065 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ utilizando un espectrofotómetro UV/vis Thermo Fisher (Massachussets, EE. UU.) Evolution 201 a una longitud de onda de 242nm (el pico de absorbancia del paracetamol fue determinado por barrido). Para todos los casos se utilizó una celda de cuarzo con un volumen de 20 mL ya sea de las muestras o de los estándares.

Todos los muestreos se realizaron semanalmente por 3 meses.

A través de una regresión lineal (Eq. 1) se calculó la concentración en $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de paracetamol en las muestras, y se calculó el porcentaje de degradación (Eq. 2).

$$y = mx + b \quad (\text{Ec. 1})$$

$$\% \text{remocion contaminante} = 100 - \left(\frac{\text{concentración final}}{\text{concentración inicial}} \right) \times 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

Una vez obtenido el porcentaje de degradación de cada grupo y cada planta, se seleccionó el ejemplar del grupo experimento con mejor desempeño en la absorción del contaminante y se tomó una alícuota de 1 mL. Se realizaron diluciones seriadas y se sembró en dos medios de cultivo diferentes; agar nutritivo y Sabouraud acidificado para el aislamiento de mohos y levaduras a partir del agua. La caracterización de las cepas se realizó morfológicamente después de realizar tinciones con lactofenol azul de algodón apoyados de un atlas especializado (Sciortino, 2017).

Para conocer la capacidad de degradación de paracetamol por los hongos que crecieron en el agua de la planta, algunos aislados fueron sembrados en paracetamol con agua en dos concentraciones diferentes: $0.021 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ y $0.041 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Semanalmente se cuantificó el paracetamol residual en agua empleando los equipos y parámetros ya mencionados.

RESULTADOS

Características físicas

Después de una semana de crecimiento de *E. aureum* en agua con paracetamol (Figura 1), el medio acuoso presentó distintos niveles de turbidez para cada caso. Este fenómeno pudo ocurrir debido a que hubo formación de una biopelícula en sus raíces. Así mismo después de 45 días de tratamiento, la turbidez disminuyó completamente en los triplicados (Figura 2), las raíces de las plantas aumentaron su volumen, sus hojas no perdieron pigmentación aparente y la biopelícula tuvo un mayor crecimiento.



Figura 1. Experimento (agua + paracetamol + *E. aureum*) durante la semana 1.



Figura 2. Experimento (agua + paracetamol + *E. aureum*) después de 45 días de tratamiento.

Por otro lado, los controles negativos también comenzaron a presentar una ligera turbidez después de una semana de su preparación (Figura 3). Posterior la 8ª semana, los tres frascos presentaron un aumento de turbidez significativo, pudiendo deberse a la oxidación del fármaco. Éste fenómeno ha sido reportado y se sabe que el paracetamol es susceptible a oxidarse por varios factores, principalmente por la temperatura y la exposición a la luz, al hacerlo forma entre otros compuestos la N-acetil-p-benzoquinona imina que contribuye a este fenómeno (Sakiroff et al., 2022).



Figura 3. Controles positivos (agua + Paracetamol) después de una semana de su preparación.



Figura 4. Controles positivos (agua + Paracetamol) después de 8 semanas.

En el último caso, en donde la planta creció en condiciones óptimas y en ausencia del contaminante, se logró que *E. aureum* se mantuviera con vida, con un mayor volumen de sus raíces y sin pérdida de pigmentación en sus hojas (Figura 5 y 6).



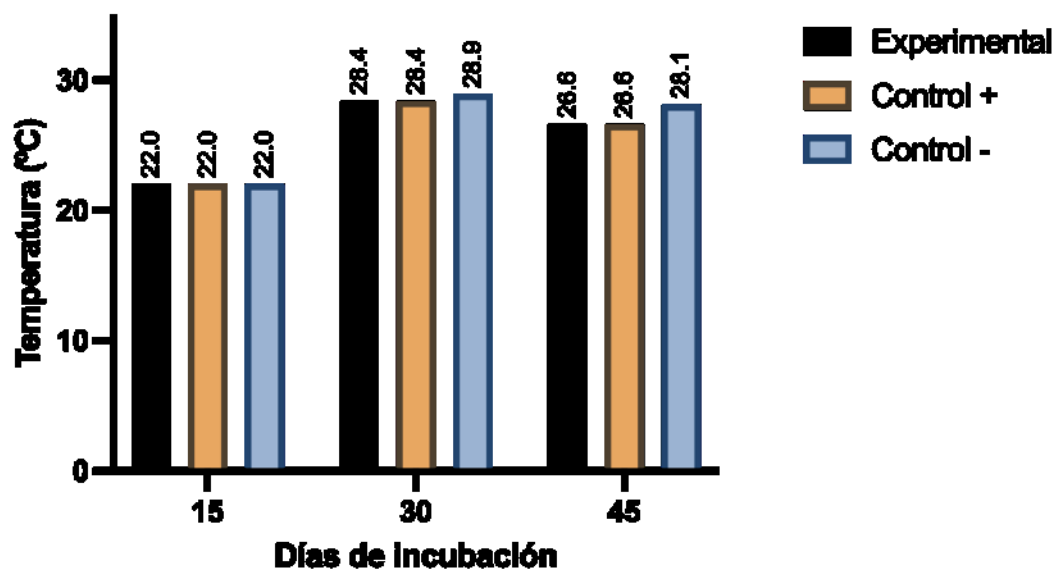
Figura 5. Primera semana de crecimiento del control negativo.



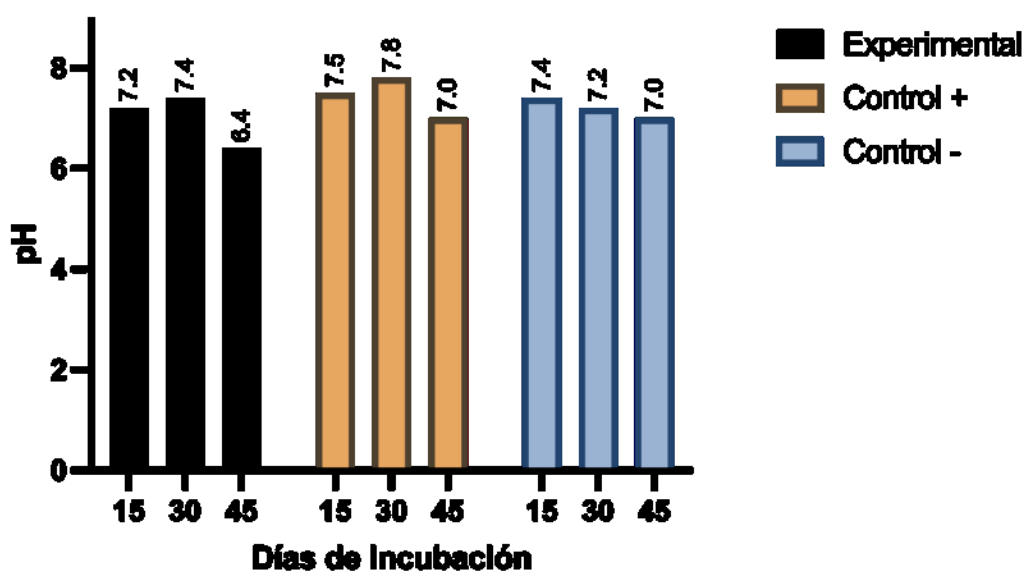
Figura 6. Crecimiento favorable de la planta Teléfono después de 45 días de experimentación.

Parámetros fisicoquímicos

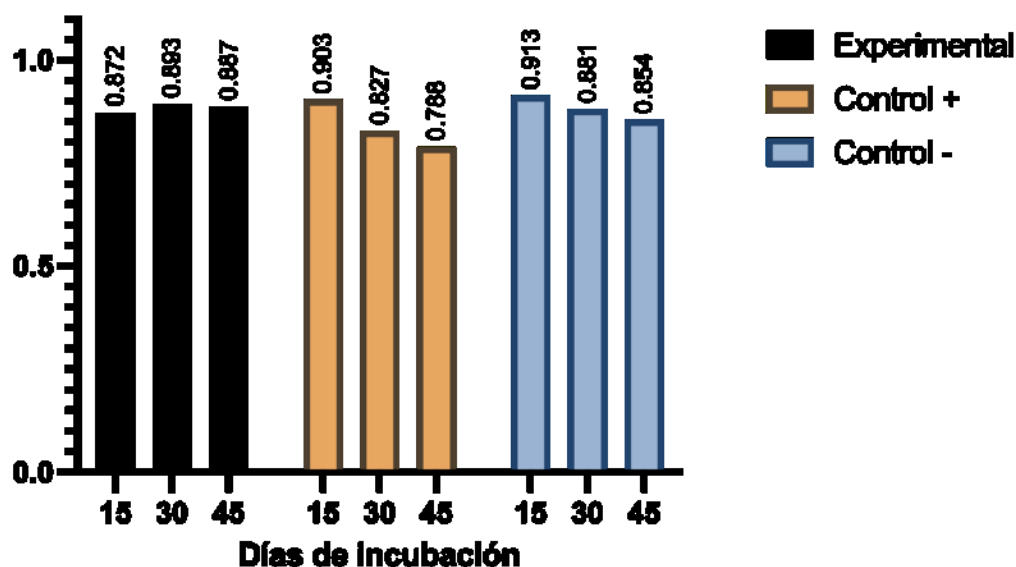
Los tres grupos (experimento, control positivo y negativo) no se mantuvieron aislados y con temperaturas controladas por lo que fueron susceptibles a los cambios de la temperatura atmosférica (Gráfica 1). En cuanto al pH, el experimento inició con un pH neutro y terminó con un valor ácido, cambiando las características fisicoquímicas del agua. Mientras que el control positivo y negativo se mantuvieron en valores neutros (Gráfica 2). Con relación a la conductividad eléctrica, el control positivo disminuyó considerablemente sus valores de conductividad; en cambio, el grupo experimental y el control negativo se mantuvieron casi los mismos valores, indicando que aún hay iones disueltos en el agua expuesta a la planta (Gráfica 3).



Gráfica 1. Monitoreo semanal de temperatura



Gráfica 2. Monitoreo semanal de pH.



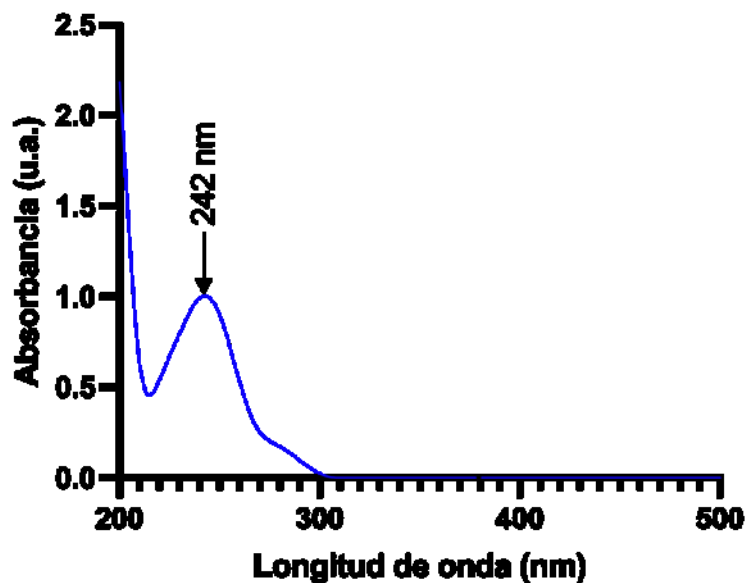
Gráfica 3. Monitoreo semanal de conductividad eléctrica.

Medición de la concentración del contaminante por UV-Vis

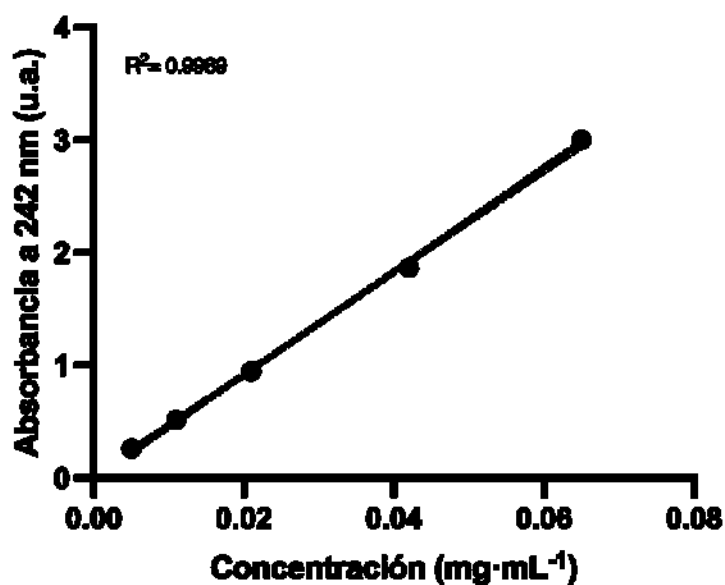
Para determinar la longitud de onda de absorción máxima del compuesto, se realizó un barrido de una muestra de paracetamol en agua a una concentración de $33.33 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. El espectro se muestra en la Gráfica 4, donde se observa que el pico de absorción está en los 242 nm, el cual corresponde a la región del UV. También se determinó en este mismo experimento que no existe absorción en el rango visible (datos no mostrados). Ésta información se utilizó para realizar la curva de calibración que se empleó en las determinaciones de remoción subsecuentes, la cual fue construida con 5 puntos, cada uno por triplicado de manera independiente, a la longitud de onda ya mencionada en el rango de $0.005 - 0.065 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Gráfica 5). Como se puede observar, se obtuvo una R^2 de 0.9989 por lo que se interpreta que el ajuste es muy bueno en el rango representado, además de que la gran mayoría de los puntos están dentro del intervalo de confianza del 95%.

La concentración de las muestras fue calculada mediante la Ec.1 donde se sustituyeron los valores con los datos obtenidos de la curva de calibración de la Gráfica 5, $y = (0.0219)x - 0.0001$, donde $m = 0.0219$ es el valor de la pendiente, $b = 0.0001$ es la ordenada al origen, y y x son las variables de absorbancia y concentración, respectivamente.

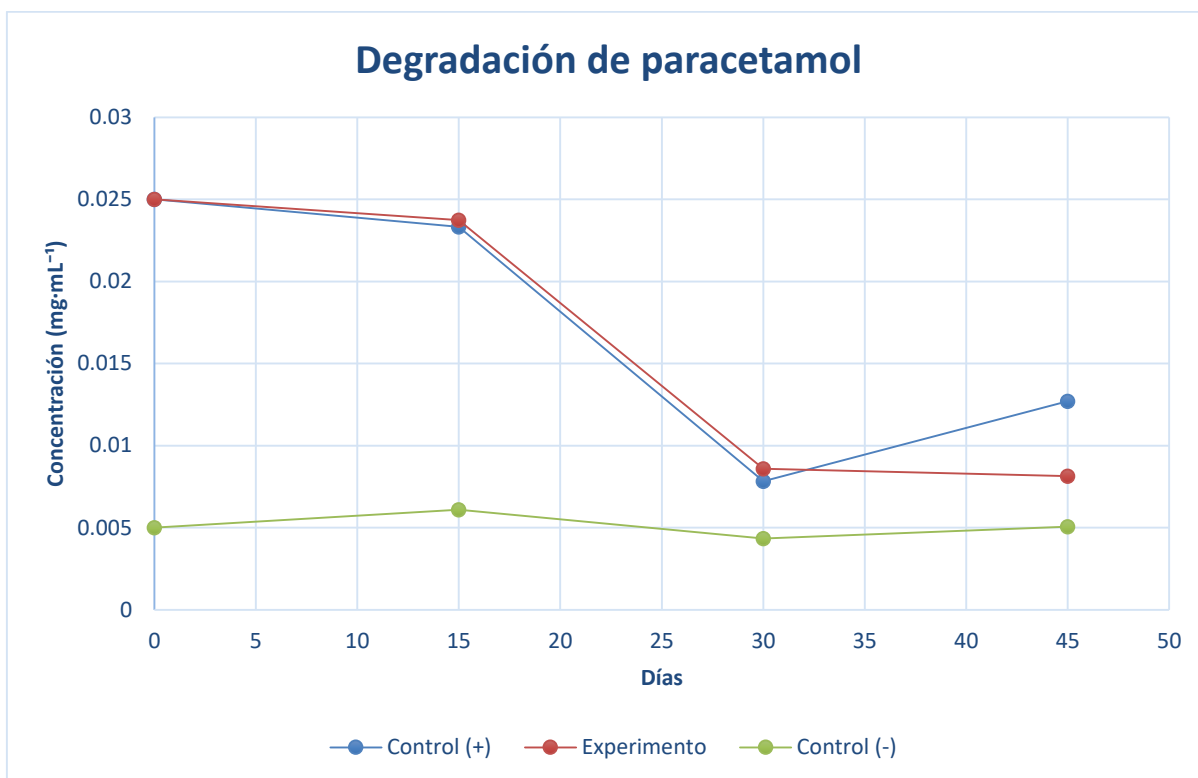
Realizando los cálculos, se obtuvo que la exposición con la planta *E. aureum* removió el 67.48% del contaminante después de 45 días de actividad, por otro lado, el compuesto del control positivo se oxidó en un 44.92%. El seguimiento de las curvas correspondientes se muestra en la Gráfica 6.



Gráfica 4. Datos obtenidos con el espectrofotómetro UV-VIS EVOLUTION 201 Thermo Scientific.



Gráfica 5. Curva de calibración de 5 puntos de paracetamol en agua. Cada punto representa el promedio de tres mediciones independientes. Las líneas punteadas representan el intervalo de confianza del 95%.



Gráfica 6. Variación de la concentración de paracetamol, en donde se aprecia la degradación al pasar del tiempo y con acción de *E. aureum*.

Aislamiento de mohos y levaduras a partir de la biopelículas en la rizosfera y estudios de remoción fúngica

Durante la incubación de la planta con el agua con paracetamol, se desarrolló una biopelícula cercana a las raíces observable a partir de la primera semana, su formación correlaciona con una mejor remoción del contaminante, calculada en un 69.69. A partir de ella se lograron aislar 3 morfologías distintas de mohos y una de levaduras empleando medios de cultivo sólido. Se identificaron gracias a su morfología colonial y microscópica como *Pichia spp.*, *Trichophyton rubrum*, *Epicoccum nigrum* y *Malbranchea spp* (Figuras 7 - 14).



Figura 7. CM3 vista posterior, identificada como *Trichophyton rubrum*.



Figura 8. CM3 vista frontal.



Figura 9. CM5 Vista posterior, identificada como *Malbranchea spp.*



Figura 10. CM5 Vista frontal.



Figura 11. CM9 vista posterior, identificada como *Epicoccum nigrum*.

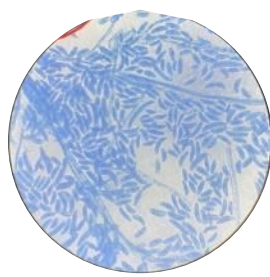


Figura 12. CM9 observada al microscopio óptico a 100 x.



Figura 13. CM11. Levadura identificada como *Pichia spp.*

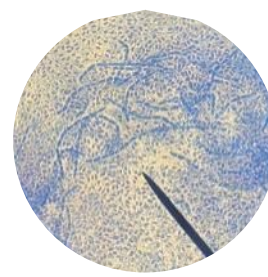
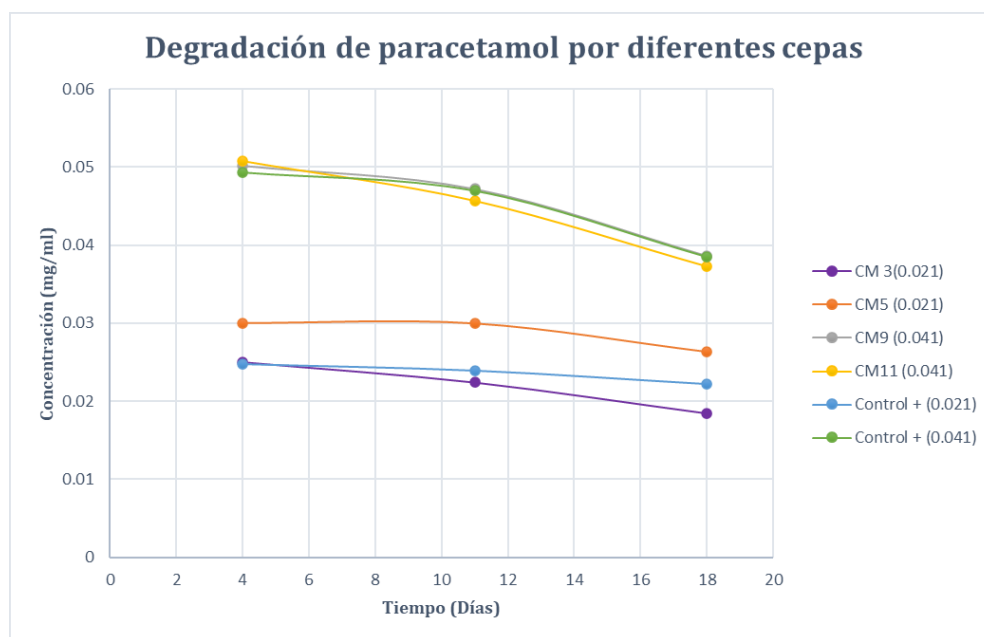


Figura 14. Cepa CM11 observada al microscopio óptico a 50x.

Con éstos aislados, se procedió a explorar sus capacidades individuales de remoción del paracetamol, por lo que Cada uno se sometió a dos distintas concentraciones del fármaco: $0.021 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ $0.041 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Después de 18 días, el porcentaje de degradación de 26.7% para *Pichia spp*, 25.9% para *Trichophyton rubrum*, 23% para *Epicoccum nigrum* y 12.4% para *Malbranchea spp* (Gráfica 7).



Gráfica 7. Disminución de la concentración del contaminante por las diferentes cepas en solo 18 días de actividad.

CONCLUSIÓN

El paracetamol es un fármaco encontrado en los cuerpos de agua, proviene principalmente de aguas residuales, domésticas, hospitalaria y farmacéutica. Su presencia en los mantos acuíferos y su consumo indirecto puede generar graves daños a la salud humana y a los ecosistemas. Por medio de la espectrofotometría UV/vis se detectó la presencia del fármaco en el agua corriente de grifo, con una concentración inicial de $0.005 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

La fitorremediación es una técnica económica, fácil y efectiva capaz de resolver esta problemática. En este trabajo, la planta modelo *Epipremnum aureum* demostró tener la capacidad de absorber en un 67.48% este compuesto cuando se encuentra disuelto en agua. Este modelo biológico generó una relación simbiótica con microorganismos que, en conjunto, aumentaron su capacidad para la remoción el compuesto químico, es este caso particular la concentración paso de $0.033 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ a

0.01 mg·mL⁻¹ en dos semanas. Aislar y caracterizar a este grupo de microorganismos es un área de oportunidad para la biorremediación de compuestos emergentes. Tres meses después de iniciar el experimento, *E. aureum* aún se conserva creciendo y produciendo nuevas raíces, ha demostrado ser un organismo resiliente y efectivo en la fitorremediación bajo nuestras condiciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Agarwal, N. (2022). Paracetamol - A Contaminant of High Concern: Existence in Environment and Adverse Effect. *Pharmaceutical Drug Regulatory Affairs Journal*, 5(1). <https://doi.org/10.23880/pdraj-16000128>
- Alqahtani, S. M., Dawood, A. F., Kamar, S. S., Haidara, M. A., ShamsEldeen, A. M., Dallak, M., Al-Ani, B., & Ebrahim, H. A. (2023). Quercetin and Resveratrol are Associated with the Downregulation of TNF- α /NF- κ B/iNOS Axis-Mediated Acute Liver Injury in Rats Induced by Paracetamol Poisoning. *International Journal of Morphology*, 41(1), 79–84. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022023000100079>
- Encarnação, T., Palito, C., Pais, A. A. C. C., Valente, A. J. M., & Burrows, H. D. (2020). Removal of Pharmaceuticals from Water by Free and Immobilised Microalgae. *Molecules*, 25(16), 3639. <https://doi.org/10.3390/molecules25163639>
- Gupta, A., Kumar, S., Bajpai, Y., Chaturvedi, K., Johri, P., Tiwari, R. K., Vivekanand, V., & Trivedi, M. (2024). Pharmaceutically active micropollutants: origin, hazards and removal. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1339469>
- Izzudin, N. M., Azami, M. S., Hassan, N. S., Aziz, F. F. A., & Fauzi, A. A. (2022). Insight on the development of molybdenum oxide-based photocatalyst towards pharmaceutical pollutants abatement. *Journal of Physics: Conference Series*, 2259(1), 012003. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2259/1/012003>
- Kim, K. J., Han, S. W., Yoon, J., Jeong, N., You, S. J., Yoo, E. H., Seo, H. W., Jo, S. Y., & Kays, S. J. (2020). Removal of indoor odors via phytoremediation: interaction between aromatic hydrocarbon odorants decreases toluene removal. *Air Quality, Atmosphere & Health*, 13(12), 1395–1401. <https://doi.org/10.1007/s11869-020-00864-0>
- Li, X., Hu, Y., Li, D., & Su, Y. (2023). Transport and removal mechanism of benzene by Tradescantia zebrina Bosse and Epipremnum aureum (Linden ex André) G.S. Bunting in air-plant-solution system. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30(20), 58282–58294. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26618-w>
- Ortúzar, M., Esterhuizen, M., Olicón-Hernández, D. R., González-López, J., & Aranda, E. (2022). Pharmaceutical Pollution in Aquatic Environments: A Concise Review of Environmental Impacts and Bioremediation Systems. *Frontiers in Microbiology*, 13, 869332. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.869332>
- Rivera-Jaimes, J. A., Postigo, C., Melgoza-Aleman, R. M., Aceña, J., Barceló, D., & López de Alda, M. (2018). Estudio de productos farmacéuticos en aguas superficiales y residuales de Cuernavaca, Morelos, México: ocurrencia y evaluación de riesgos ambientales. *Science of the Total Environment*, 613, 1263–1274. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.134>
- Sakiroff, L.-M., Chennell, P., Yessaad, M., Pereira, B., Bouattour, Y., & Sautou, V. (2022). Evaluation of color changes during stability studies using spectrophotometric chromaticity measurements versus visual examination. *Scientific Reports*, 12(1), 8959. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13025-3>
- Sciortino, C. V. (2017). *Atlas of Clinically Important Fungi*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119069720>
- Seller, C., Honti, M., Singer, H., & Fenner, K. (2020). Biotransformation of Chemicals in Water–Sediment Suspensions: Influencing Factors and Implications for Persistence Assessment. *Environmental Science & Technology Letters*, 7(11), 854–860. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00725>
- Yan, A., Wang, Y., Tan, S. N., Mohd Yusof, M. L., Ghosh, S., & Chen, Z. (2020). Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00359>

Zuo, L., Wu, D., Yu, L., & Yuan, Y. (2022). Phytoremediation of formaldehyde by the stems of *Epipremnum aureum* and *Rohdea japonica*. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(8), 11445–11454. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16571-x>

BIORREMEDIACIÓN A PARTIR DEL USO DEL COMPOSTAJE

Sofía Valentina Calvillo Beltrán¹, Ivan Arroyo Ordoñez¹

Universidad Politécnica de Cuautitlán Izcalli
1322202006@upci.edu.mx, ivanaor@upci.edu.mx

RESUMEN

A lo largo de México y el mundo existen grandes porciones de suelo derrochado debido a que no son fértiles o aptos para cultivos, por lo que estos se transforman en una zona generadora de contaminación y disminución de la biodiversidad, este problema se ve incrementado por el incorrecto manejo de residuos orgánicos generados tanto en hogares como en mercados, teniendo un impacto y efecto negativo en el suelo.

La biorremediación se encarga de llevar a cabo procesos que conlleven el uso de microorganismos, plantas u otros organismos vivos para degradar o transformar contaminantes ambientales en sustancias menos tóxicas o inocuas. Sirve para limpiar suelos, aguas y aire de sustancias químicas como lo son los metales pesados, hidrocarburos, pesticidas y otros productos químicos industriales. El compostaje es un método de biorremediación ex situ. Se basa en la descomposición biológica de sustratos orgánicos; se realiza por una población microbiana diversa, que, en condiciones predominantes aerobias, generan un material estable libre de patógenos que puede aplicarse al suelo. Existen diversos tipos y técnicas de compostaje, sin embargo, una técnica que ha tenido éxito es el método "Takakura" este consiste en el uso de procesos fermentativos mediante la preparación de sustratos y un lecho que almacenará los sustratos y dará pie a la obtención de un microorganismo en particular, el hongo *Aspergillus Fumigatus*, el cual ayuda a la descomposición de los residuos orgánicos absorbiendo las sustancias contaminantes del suelo.

Se realizaron diferentes muestras con la composta, el hongo y la tierra baja en nutrientes, utilizando diferentes proporciones. Esto con el fin de observar el cambio en las propiedades de la tierra. Posteriormente se colocaron diferentes tipos de plantas para evaluar el desarrollo en la tierra baja en nutrientes, tomando en cuenta algunas propiedades fisicoquímicas.

Los resultados de las muestras fueron determinados después de realizar diferentes pruebas fisicoquímicas tanto en la tierra baja en nutrientes, utilizándola como blanco y posteriormente en la tierra baja en nutrientes tratada con las diferentes proporciones de composta. Los resultados obtenidos mediante las pruebas fisicoquímicas fueron mejoras en la estructura de la tierra, esta tomó una consistencia suave y húmeda, favoreciendo el crecimiento de las plantas y su requerimiento de agua, generando la aparición de raíces en la tierra baja en nutrientes dado que el hongo absorbió los contaminantes que esta podía tener y con el tiempo este se unificó con la tierra, dando pie a que la composta aportara los nutrientes, devolviendo al suelo una consistencia adecuada y buena fertilidad.

Se concluye que este método de compostaje y hongo biorremedian exitosamente el suelo, ya que aportan macro y micronutrientes, eliminan desechos tóxicos, mejoran las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, aumentan la retención de humedad y la capacidad de intercambio catiónico, mejoran su fertilidad, estructura y previenen su erosión y degradación.

INTRODUCCIÓN

La Biotecnología se define como el uso de organismos vivos o parte de ellos para obtener un producto o servicio útil para el hombre sin dañar al medio ambiente. Dentro de las ramas de la Biotecnología se encuentran los bioprocesos; tales como la biorremediación.

La biorremediación es un término utilizado para describir las diferentes técnicas y procesos en los cuales se emplean organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, entre otros) para remover, degradar o transformar compuestos orgánicos tóxicos en productos metabólicos menos tóxicos o inocuos (Van Deuren et al. 1997). Tiene la función de limpiar suelos, aguas y aire de diversas sustancias químicas como lo son los metales pesados, hidrocarburos, pesticidas y otros productos químicos industriales.

Los desarrollos biológicos que comprenden enzimas como catalizadores son capaces de transformar moléculas orgánicas generando cambios tanto en su estructura como en sus propiedades toxicológicas, conllevando a la metamorfosis completa de dichos compuestos en productos inorgánicos como agua, CO₂ o formas inorgánicas de N, P y S, además de componentes celulares y productos de las rutas metabólicas como la mineralización. Estos desarrollos pueden obtenerse a través del uso del compostaje.

El compostaje es un método de biorremediación *ex situ* basado en la descomposición biológica de sustratos orgánicos; se realiza por una población microbiana diversa (bacterias y hongos) los cuales, en condiciones predominantes aerobias, generan un material estable libre de patógenos que puede aplicarse al suelo; adicionalmente este puede generar CO₂, H₂O, NO₃ y SO₄ (Stentiford y Bertoldi, 2010).

Existen diversos tipos y técnicas de compostaje, sin embargo, una técnica que ha tenido éxito en los últimos años es el método "Takakura" este consiste en el uso de procesos fermentativos mediante la preparación de sustratos, denominados "semilla" y un lecho que almacenará los sustratos y dará pie a la obtención de un microorganismo en particular, el hongo *Aspergillus Fumigatus*, el cual ayuda a la descomposición rápida y eficaz de los restos orgánicos y absorberá las sustancias contaminantes del suelo.

El hongo en conjunto con la composta "Takakura" favorece a las tres funciones del suelo (física, química y biológica) y alimenta a los microorganismos responsables de "arar la tierra" lo que facilita la penetración de las raíces de las plantas, la aireación y permeabilidad del suelo o la producción de nuevos nutrientes. Teniendo presente que el suelo es un elemento primordial del ambiente, natural y finito, integrado por minerales, aire, agua, materia orgánica, macro y microorganismos que ejercen procesos permanentes de tipo biótico y abiótico, ejerciendo funciones vitales para la población y el planeta.

Dentro de la Universidad Politécnica de Cuautitlan Izcalli se realizó una investigación en la cual se analizaron las propiedades y condiciones biológicas y microbiológicas de este compostaje y sus aplicaciones para con la tierra y las plantas. Dando pauta para implementar estas propiedades al terreno con tierra baja en nutrientes dentro de la universidad; ajustando las condiciones de la composta a las necesarias de la tierra. Para este proceso se realizaron diversas pruebas fisicoquímicas.

Las pruebas fisicoquímicas son el conjunto de métodos y técnicas que determinan la composición y características químicas y físicas de la tierra, la aplicación de los análisis fisicoquímicos contribuye de manera crucial al desarrollo y a la comprensión de la tierra para cumplir con la NOM-EM-138-ECOL-2002 que establece los límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración. Consecuentemente se busca ajustar los parámetros obtenidos mediante estas pruebas a los óptimos requeridos por la tierra para adaptarse a la NOM-021-RECNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos.

TEORÍA

La biorremediación de suelos específicamente involucra técnicas para eliminar los contaminantes. El objetivo de estas técnicas es estimular a los microorganismos con nutrientes y otros componentes ya sean químicos o naturales para que puedan destruir los contaminantes. Durante este proceso las enzimas microbianas están comprendidas directamente en la transformación o degradación de dichos contaminantes, su capacidad depende de diversos factores como por ejemplo la magnitud y toxicidad de los contaminantes, la degradabilidad de estos y la idoneidad con la que se cuenta para dar seguimiento al curso de la biorremediación (Das y Dash, 2014).

La biorremediación puede tener lugar en cualquier entorno contaminado que comprenda elementos como suelo, agua o aire, a este proceso se le conoce como biorremediación *in situ*; o bien en un entorno especialmente preparado, donde la matriz contaminada se traslada a otro lugar, a este proceso se le conoce como biorremediación *ex situ*. (Dzionek et al, 2016).

Dentro de los métodos de biorremediación *in situ* se encuentran cuatro técnicas: atenuación natural, bioventeo, bioestimulación y bioaumentación.

1. El proceso de atenuación natural se refiere al proceso intrínseco de biorremediación el cual depende de diversos factores físicos, químicos y biológicos, que bajo las condiciones

- favorables actúan sin la intervención humana para reducir la toxicidad, concentración de los contaminantes o la masa (Srivastava, 2015).
2. El método bioventeo, consiste en suministrar aire y nutrientes al área contaminada mediante la adecuación de una red de ductos y tuberías, estas se caracterizan por proveer tasas moderadas de aire para estimular el metabolismo aerobio de los microorganismos y promover la oxidación de compuestos contaminantes, esto mientras minimiza la volatilización de los contaminantes a la atmósfera (Vivaldi, 2011).
 3. El método de bioestimulación se basa en aumentar la actividad de las bacterias endógenas de los suelos contaminados al proveerles nutrientes, oxígeno, surfactantes o agua al modificar otras variantes ambientales (Zawierucha y Malina, 2011). Sin embargo, esta técnica tiene limitaciones, ya que hay suelos en los que no se encuentran los microorganismos adecuados para degradar los contaminantes o la concentración de estos últimos es elevada (Speight y Arjoon, 2012).
 4. La bioaumentación es el proceso por el cual se añaden microorganismos al suelo contaminado con el objetivo de dar pie o acelerar la biorremediación de esta área de suelo (Zawierucha y Malina, 2011). Este método se puede llevar a cabo mediante 3 técnicas; enriquecimiento o aislamiento de microorganismos del sitio de objetivo, su subsecuente cultivo y reinoculación; la exclusión de microorganismos; y la introducción de microorganismos genéticamente modificados (Zawierucha y Malina, 2011).

Por otro lado, se encuentran los métodos de biorremediación ex situ, donde se hallan cuatro técnicas de tratamiento de suelos. El landfarming, el composteo, las biopilas y los biorreactores.

1. El landfarming consiste en retirar el suelo contaminado y colocarlo sobre una cama previamente preparada en cuyo fondo se localice una geomembrana (es empleada como aislante para evitar filtraciones en el subsuelo). Normalmente estas superficies de suelo excavadas oscilan en los 10-35 cm. Una vez que el suelo se vacía en la cama, se estimulan los consorcios microbianos para que incidan con la degradación de los contaminantes (Villegas et al, 2014).
2. El composteo, se refiere a un proceso de degradación de residuos orgánicos basados en el metabolismo microbiana anaerobio que generalmente se lleva a cabo a temperaturas de entre 55-65°C. Estas temperaturas se deben al producto de la actividad biológica (Das y Dash, 2014).
3. La técnica de las biopilas, esta consiste en mezclar suelos contaminados previamente preparados, para después colocarlos en un área determinada; la biorremediación se lleva a cabo utilizando la aireación. Para esto se utilizan diversos parámetros como la humedad, nutrientes, calor oxígeno y pH, los cuales deben ser controlados, la aireación y el sistema de control de nutrientes se pueden realizar por vacío o por presión positiva. Esta técnica es efectiva principalmente para biorremediar sitios contaminados de petróleo (Dzionic et al, 2016).
4. El método de biorreactores de sólidos es usado para tratar materiales sólidos (suelos, sedimentos, lodos). Para esto, las matrices contaminadas son trasladadas a envases o inóculos, nutrientes y condiciones controladas para su biorremediación (Labana et al, 2007). Los biorreactores de sólidos en suspensión son unos de los métodos más empleados para biorremediar
5. el suelo gracias a su idoneidad de dirigir las condiciones de operación y para incrementar la actividad microbiana (Dzionic et al, 2016).

Dentro de la técnica ex situ del compostaje se pueden encontrar diferentes métodos, por ejemplo, el "Takakura", este es una técnica de compostaje optimizado a base de microorganismos, que consiste en preparar un sustrato previo denominado "semilla" y un lecho de fermentación, el cual provee las condiciones óptimas para que posea una gran cantidad y variedad de microorganismos que descomponen de forma rápida y eficaz los restos orgánicos y gracias a la transformación que estos realizan se genera el hongo *Aspergillus Fumigatus* que tiene como función biorremediar la tierra baja en nutrientes.

En la naturaleza los microorganismos se clasifican en aerobios, que requieren de oxígeno para sobrevivir; y los anaerobios que pueden funcionar con poco o incluso sin oxígeno, 8 estos últimos son los responsables de la putrefacción de los desechos y el mal olor de estos (Honobe, 2013).

Para desintegrar los residuos orgánicos el método Takakura utiliza fundamentalmente los microorganismos aerobios. Esta modificación se fortalece por el constante movimiento de la composta, es decir, el movimiento brinda más fuerza a los aerobios y reduce la actividad de los anaerobios.

Los microorganismos del método Takakura se alojan en los alimentos fermentados (queso, yogurt, levadura, vino, entre otros) y en el “manto” de los bosques (hojas, ramas, flores, pasto, hongos), cada uno de estos descomponen alimentos específicos; por ejemplo, los microorganismos de los alimentos fermentados descomponen carbohidratos, proteínas y grasas, mientras que los microorganismos encontrados en el manto de bosque descomponen principalmente, las fibras y las ligninas que son las partes más duras de la comida. Dando así las condiciones para la obtención del hongo *Aspergillus Fumigatus*.

Con respecto a la conexión agrícola, el suelo es la capa de material fértil (tierra) que reviste la superficie de la tierra la cual es detonada por las raíces de las plantas y el medio por la cual obtienen el sustento que requieren (nutrientes y agua). En consecuencia, cuando el suelo no cumple con ciertas propiedades la tierra es considerada incapaz de guarecer plantas.

El suelo cuenta con tres propiedades básicas para considerarse fértil y funcional. Estas propiedades son químicas, físicas y biológicas. Las propiedades químicas se encargan de aportar los minerales de tipo no orgánico que nutren al suelo. Las físicas determinan la rigidez y fuerza de sostenimiento, la facilidad para la penetración de las raíces, la aireación, permeabilidad del suelo, plasticidad y retención de nutrientes; entre otras características. Mientras que las propiedades biológicas se refieren a aquellos microorganismos que favorecen la calidad del suelo.

Un suelo adecuado es vital para obtener una cosecha beneficiosa. El suelo debe gozar de todos los macro y micronutrientes imprescindibles para el desarrollo de las plantas, y una estructura que pueda mantenerlas fuertes y erguidas. La estructura del suelo debe ser capaz de proporcionar suficiente agua y aire a las raíces de la planta, sin embargo, se debe eludir la desmesura de agua por medio de un drenaje adecuado.

Las pruebas fisicoquímicas son el conjunto de métodos y/o técnicas que permiten determinar la composición y características químicas y físicas de diversos componentes de la naturaleza o de la industria dentro de un sistema.

Dentro de las pruebas fisicoquímicas para el análisis de suelos existen diferentes técnicas que pueden ser empleadas para determinar el parámetro correspondiente. Sin embargo, existen algunas que eficientizan el proceso para con el suelo y el tiempo acuerdo con la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). Estas pruebas determinadas por la FAO fueron las que se tomaron en consideración para realizar este proyecto.

Existe una gran cantidad de parámetros que deben considerarse a la hora de determinar la fertilidad de la tierra, sin embargo, algunas de las más importantes son:

1. Prueba de pH: El pH es una de las propiedades químicas más importantes e imprescindibles que precisa el suelo debido a que influye en numerosos procesos químicos, físicos y biológicos que a su vez coadyuban en los diferentes procesos y propiedades que garantizan el desarrollo apropiado de las plantas y la generación de biomasa en el suelo. El pH del suelo puede ser obtenido mediante el método colorimétrico, electrométrico o potenciómetro; el objetivo es determinar la actividad que posea el ion de hidrogeno; esto se debe a que los suelos bajos en nutrientes tienden a poseer una excesiva concentración de sales haciendo este sumamente ácido cuando el valor ideal debería ser de 6 a 7.
2. Salinidad: La salinidad del suelo se refiere al proceso de acumulación de sales en los suelos donde hay exceso de calcio y sodio, generando la sodificación o alcalinización de la tierra provocando la rápida erosión de esta. El método para obtener la salinidad es mediante la conductividad eléctrica de la muestra en la que la saturación del suelo obtenido desde una zona radicular activa.
3. Carbono Total: Este es un indicador de la producción óptima y eficiente de materia orgánica lo cual es un factor que determina la labranza y capacidad productiva de los suelos, así como las cantidades de este para remover el exceso de sodio que se convierte en un elemento

que favorece una alta salinidad. Aunado a esto la ausencia de carbono en la tierra limita los recursos energéticos en suelo evitando que las reacciones o procesos biológicos para formar moléculas se lleven a cabo.

4. **Materia Orgánica:** Se refiere a los compuestos orgánicos ligeramente descompuestos en la cual se genera un ambiente anegado donde se desarrollan diferentes microorganismos que favorecen al suelo y le aportan diferentes macro y micronutrientes que benefician las condiciones del suelo manteniendo y/o incrementando la estabilidad de un ecosistema además de proveer un sustrato adecuado a las plantas o cultivos.
5. **Nitrógeno Total:** Hace referencia al elemento encargado de la nutrición de las plantas, siendo este el nutriente más importante para ellas ya que es el encargado de ayudarlas a sintetizar aminoácidos para transformarlos en proteínas. Esto solo es posible si la cantidad de Nitrógeno en el suelo es óptima, ya que si tiene poco estas no se desarrollarán y si tiene un exceso influirá en la sobresaturación de nutrientes en la tierra que terminará dañando la planta o cultivo. Para determinar esto se puede utilizar el método Micro-Kjeldahl.
6. **Fosforo disponible:** Los requerimientos de fosforo del suelo se refieren al almacenamiento del elemento para que este aporte el macronutriente necesario para el desarrollo de metabolismos de las plantas o cultivos colocados en ese suelo dando pie a la expansión, división celular y el proceso de respiración y fotosíntesis. Adicionalmente el fosforo se encarga de crear raíces en las plantas y favorecer la floración de estas. Para determinar estos parámetros se puede utilizar el método Bray.
7. **Color:** El color del suelo es considerado un indicador de si el suelo es húmedo o seco, si es saturado o insaturado y ayuda a determinar a qué categoría de suelo pertenece debido a la separación que puede haber de los componentes sólidos y de partículas estandarizadas. Para esto se puede utilizar el método Munsell.
8. **Humedad:** La humedad en el suelo es de vital importancia para realizar la fotosíntesis y es un parámetro que determina la subsistencia de diferentes microorganismos benéficos para los procesos biológicos que debe realizar la planta en conjunto con la tierra para mantener el equilibrio del respectivo ecosistema y poder mantener niveles óptimos de dióxido de carbono. El método comúnmente utilizado es el gravimétrico.
9. **Textura:** Este parámetro permite saber cuanta agua retiene el suelo y la manera en la que libera paulatinamente los nutrientes, dependiendo de la proporción de arena, limo y arcilla es que se determina el tipo de suelo que es y que tipo de flora puede crecer en esta de acuerdo con sus diferentes propiedades para que ninguna especie invasora o no endémica pueda subsistir dañando el ecosistema. El método para esta prueba es mediante el uso de un hidrómetro de Bouyoucos. Sin embargo, también puede ser obtenido tomando como base la humedad del suelo.

PARTE EXPERIMENTAL

El proceso da inicio con la toma de muestras de tierra baja en nutrientes previamente biorremediada con el compostaje "Takakura". Las muestras se dividieron en dos periodos de tiempo y un blanco. La muestra tomada como blanco fue la tierra baja en nutrientes sin la aplicación de composta. Para la muestra del primer periodo de tiempo se tomo tierra baja en nutrientes previamente biorremediada con el compostaje durante un lapso de 1 mes; por su parte, la muestra del segundo periodo de tiempo fue tierra baja en nutrientes biorremediada durante un lapso de 5 meses.

Una vez que se tienen las diferentes muestras se da inicio con la determinación de parámetros óptimos para que la tierra sea considerada fértil y apta para cultivos, estos parámetros son determinados por la FAO. Una vez determinadas las condiciones óptimas del suelo se comienzan a realizar las pruebas fisicoquímicas en las diferentes muestras para posteriormente hacer una comparativa de la evolución de la tierra con el compostaje teniendo diferentes intervalos de tiempo transcurrido y que tanto se acercan a los parámetros ideales.

La primera prueba por realizar es el análisis de color mediante el método Munsell. Este consiste en la elaboración manual de una esfera de aproximadamente 5 cm de diámetro con las diferentes muestras de tierra y agua destilada hasta formar una pasta. Una vez formada la esfera se coloca junto a la plantilla para determinación del color ubicada en el libro Munsell Soil Color Charts.



Figura 8. Esfera de tierra para realizar comparativa

Se continua con la prueba de humedad. Determinada por un método gravimétrico establecido en el Manual de Métodos Analíticos del Laboratorio de Suelos del IGA. Este consiste en pesar una fracción de las muestras en seco y posteriormente tomar la misma cantidad, pero esta vez humedeciéndolas ligeramente con agua destilada antes de ser pesadas. Finalmente se emplean los valores obtenidos en la siguiente ecuación para determinar el porcentaje de humedad.

$$P_w(\%) = \frac{\text{peso suelo humedo} - \text{peso suelo seco}}{\text{peso suelo humedo}}$$

Formula 1. Determinación de humedad

Para la prueba de textura se emplea el método de Hidrómetro de Bouyoucos-Densímetro. Este método consiste en estimar las partículas a partir de la densidad de la solución medida con un hidrómetro, a diferentes tiempos.



Figura 9. Preparación de muestra para el uso del hidrómetro

A continuación, se realiza la prueba de pH mediante el método del potenciómetro descrito por la NTC 5264. Este consta en colocar las muestras de tierra en matraces y posteriormente agregarles agua destilada para someter la solución a agitación durante 10 minutos aproximadamente. Finalmente se mide el pH de la solución mediante una tira reactiva o un potenciómetro.

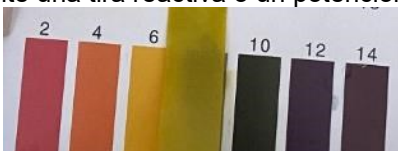


Figura 10. Prueba de pH con tira reactiva

Se continua el proceso con la prueba de salinidad determinada mediante el método del conductímetro. Para este proceso se debe colocar tierra de cada muestra en un vaso precipitado y sellarlo herméticamente con papel film, dejarlo reposar hasta que se genere un vacío y finalmente se utiliza un conductímetro para poder determinar el parámetro y saturación de sales.



Figura 11. Uso del conductímetro

Siguiendo con la prueba del Nitrógeno total se preparan las soluciones establecidas en el método Micro-Kjeldahl para posteriormente colocarlas en un digestor y esperar a que estas se enfrien, una vez que se lleve a cabo el proceso el viraje de la solución se sustituyen los datos obtenidos en la siguiente formula.

$$N(\%) = \frac{1.4 \times (Vm - Vb) \times N}{p}$$

Formula 2. Determinación del Nitrógeno Total

En la prueba del Carbono total se emplea la metodología Mehlich. Para este proceso se coloca la muestra deseada en ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido clorhídrico (HCl) para obtener una cierta coloración, posteriormente se titulan las muestras con sulfato ferroso ($FeSO_4$). Con estos datos se sustituye en la siguiente formula.

$$COT = (Vb - Vm) \times N \times 0.003 \times 100$$

Formula 3. Determinación del Carbono Total



Figura 12. Viraje de la tierra en presencia de $FeSO_4$

El fósforo disponible se determina mediante el método Bray descrito en la NTC 5350. Establece que se debe colocar parte de la muestra en un matraz y diluirlo con agua destilada y añadirle amonio para poder realizar una cuantificación mediante la siguiente formula.

$$P(\text{mg/kg de suelo}) = CC \times \frac{Vf}{A} \times \frac{Vi}{p}$$

Formula 4. Determinación del Fósforo Disponible



Figura 13. Tierra de muestra con amonio

Finalmente se realiza el proceso para la cuantificación de materia orgánica mediante el método de Walkley-Black. Este es el mismo de carbono total adicionando el doble de muestra y utilizando la siguiente formula.

$$M.O(\%) = C.O(\%) \times 1.74$$

Formula 5. Determinación de materia orgánica



Figura 14. Prueba de materia orgánica

RESULTADOS

Se tomaron muestras de tierra baja en nutrientes para utilizar como blanco, además de analizar la evolución de condiciones y características de esta una vez aplicada la composta. Analizando el tiempo aproximado de su evolución. El resultado de las pruebas fue un incremento en la fertilidad y condiciones en general de la tierra como se muestra en la tabla a continuación.

Prueba Fisicoquímica	Tierra sin composta (blanco)	Tierra con 1 mes de composta	Tierra con 5 meses de composta
Pruebas Físicas			
Color			
Humedad	18.24%	23.57%	44%
Textura	Arenosa	Areno Arcillosa	Franco arenosa
Pruebas Químicas			
Carbono Total	19.8 mg/kg	23.48 mg/kg	32.18 mg/kg
Fosforo Disponible	17.2 mg/kg	20.5 mg/kg	48 mg/kg
Materia Orgánica	13%	26%	47%
Nitrógeno Total	7.67 mg/kg	10.6 mg/kg	27.25mg/kg
pH	4.6	5.4	6.6
Salinidad	3	3	2

Tabla 4. Resultados obtenidos de las pruebas fisicoquímicas en las 3 diferentes muestras



Figura 15. Evolución de la tierra mediante el uso del compostaje



Figura 16. Desarrollo de las plantas en la tierra biorremediada

CONCLUSIONES

La composta aporta diferentes macro y micronutrientes que restauran las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, aumentando su fertilidad, propiedades y previniendo así su erosión y degradación. La mejora en las condiciones de la tierra generó que esta tuviera las características necesarias para mantener con vida a las plantas y ayudarlas a desarrollarse dentro de la misma, teniendo la aparición de raíces, hojas, ramas y flores. Tomando en cuenta la NOM-EM-138-ECOL-2002 y la NOM-021-RECNAT-2000; se determinó que el compostaje por el método "Takakura" es un medio de biorremediación viable. Que a la vez afronta el problema de contaminación por desechos orgánicos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Sánchez ÓJ, Ospina DA, Montoya S. Compost supplementation with nutrients and microorganisms in composting process. Waste Manag. 2017 Nov; 69:136-153. doi: 10.1016/j.wasman.2017.08.012. Epub 2017 Aug 18. PMID: 28823698.
- 2) Lizcano Toledo Rodolfo, Olivera Viciado Dilier, Saavedra Mora David, Machado Cuellar Leidy. (2017). Muestreo de suelos, técnicas de laboratorio e interpretación de análisis de suelos. Recuperado el 15 de abril de 2024 de file:///C:/Users/valeb/Downloads/CARTILLAMUESTREOSDESUELOS-PANAMERICANA.pdf

CARACTERIZACIÓN DE UN POTENCIADOR DE SABOR DEL HONGO COMESTIBLE SHIITAKE (*LENTINULA EDODES*)

Daniela Fernanda Ramírez Abarca¹, Leticia Aguilar Doroteo¹, Gustavo Valencia del Toro¹, Angélica Cruz Solorio¹, María Eugenia Garín Aguilar² y Miguel Ángel López Martínez¹

¹Laboratorio de Cultivos Celulares de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, UPIBI, Instituto Politécnico Nacional, Barrio La Laguna SN, México D. F. ²Laboratorio de Farmacobiología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. de los Barrios # 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, CP 54090. Estado de México, México
letyad05@hotmail.com

RESUMEN

A pesar de que los hongos comestibles han sido empleados desde la antigüedad por su composición nutricional y propiedades medicinales, recientemente sus usos se han incrementado debido a sus sabores y cualidades sensoriales^{1, 2}. Estudios demuestran que la intensidad gustativa umami en extractos del género *Lentinula* pueden ser considerados como materia prima en la industria de condimentos por su capacidad de potenciar el gusto umami sin modificar los atributos sensoriales del producto final³. Por otro lado, en los últimos años el consumo de alimentos procesados ha aumentado considerablemente, por lo que el producir alternativas sin sodio contribuye a no sobrepasar su consumo recomendado y disminuir el desarrollo de enfermedades crónicas, reduciendo así el uso del glutamato monosódico (GMS), y además de potencializar la percepción del gusto salado. Por lo que, se obtuvieron extractos acuosos a partir del píleo y estípite del cuerpo fructífero de *L. edodes*, los cuales fueron secados a diferentes temperaturas (6, 9, 12 y 15 h) para caracterizarlos e identificarlos como posibles potenciadores de sabor. Como resultado de esta investigación, fue posible determinar alcaloides, azúcares reductores y aminoácidos en ambos extractos acuosos de *L. edodes* mediante el análisis preliminar microquímico. Por otra parte, la mayor concentración de ácido glutámico y aspártico se presentó en el píleo en comparación del estípite. Asimismo, se detectó la presencia de aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, y leucina en los extractos mediante cromatografía en capa fina. Los espectros de infrarrojo revelaron picos característicos (3400-3200, 2500, 2159, 2030 y 1638 cm⁻¹) de grupos funcionales de aminoácidos. Finalmente se verificó la especie de *Lentinula* con técnicas de biología molecular. Con este trabajo se evidenció la presencia de componentes aromáticos y gustativos en el cuerpo fructífero de *Lentinula edodes*, y que el extracto secado por 12 horas es considerado como alternativa para ser empleado como potenciador de sabor.

INTRODUCCION

Los hongos comestibles han sido producidos de manera natural desde hace miles de años, en las regiones montañosas de Asia; sin embargo, durante las últimas décadas se han implementado herramientas y tecnologías que permitieron mejorar y aumentar la producción de estos hongos.

De acuerdo con Martínez et al. (2010) y Martínez- Carrera (2020) actualmente se producen comercialmente más de 15 especies a nivel mundial a través de procesos biotecnológicos aplicados derivados de las prácticas tradicionales enriquecidas a partir de la manipulación del ácido desoxirribonucleico (ADN) de los hongos.

Existe evidencia de que el cultivo tradicional de shiitake comenzó en China entre el siglo X y XIII (Martínez-Carrera, 2020); no obstante, su producción se industrializó en Japón después de la segunda guerra mundial, siendo el líder en la producción de este hongo.

En la actualidad shiitake se considera la especie con mayor producción mundial, abarcando aproximadamente el 22% de ésta (7,480,000 toneladas), desplazando al champiñón al cuarto puesto con un 15% de la producción total (Mata et al., 2020).

Lentinula edodes, es considerado una buena fuente de proteína comparable con la del pollo, puerco o res; así como de ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas y minerales; además de poseer bajo contenido de grasas; se les han reportado propiedades antioxidantes, antitumorales, antivirales y antimicrobianas que se han estudiado en las últimas décadas (Kwon y Hobbs, 2005; Rivera et al., 2017; Reis et al., 2012).

A pesar de que los hongos comestibles han sido empleados desde hace más de dos siglos por su composición nutrimental y propiedades medicinales, sus usos se han incrementado durante los últimos años debido a sus sabores y al aumento de la concienciación de los consumidores sobre las cualidades sensoriales de los alimentos; por lo tanto, comenzaron a realizarse diversas investigaciones sobre el empleo de estos organismos en la industria alimentaria como sustituto de sales y fosfatos, potenciadores de sabor, entre otros.

Se sabe que la percepción del gusto umami (quinto gusto básico generado por el ácido glutámico) en hongos comestibles ha sido investigada durante los últimos años, demostrando que estos pueden ser empleados como aditivos en la industria alimentaria. Recientemente, el shiitake ha sido usado como potenciador de sabor en carnes y productos fermentados debido a su peculiar sabor (Pil-Nam et al., 2015; Zhang et al., 2015).

Por lo que en el siguiente trabajo se llevo a cabo la caracterización de un potenciado de sabor de diferentes extractos acuosos del cuerpo fructífero de *L. edodes*.

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de extractos

El hongo shiitake fue cortado en fragmentos de aproximadamente 1 cm, los cuales fueron sanitizados con solución de hipoclorito de sodio a 20 ppm durante 10 minutos que posteriormente fueron enjuagados con agua, y blanqueados usando vapor de agua durante 3 minutos. Finalmente, se secó el píleo y estípite por separado a diferentes tiempos (6, 9, 12 y 15 horas) por aire caliente.

Las muestras deshidratadas fueron molidas y tamizadas empleando una malla #40 para, posteriormente, someter a una extracción empleando agua como solvente (20 mL por cada gramo de muestra seca) en agitación a 180 rpm durante 30 min a 47°C, para después filtrar con ayuda de un papel filtro (Whatman #1) de acuerdo con lo descrito por Harada-Padermo et al. (2020) con algunas modificaciones. Al final, los extractos de píleo (extractos A) y de estípite (extractos B) se congelaron a -16°C hasta su posterior uso.

Análisis preliminar micoquímico

Prueba para alcaloides: A cada tubo se le añadieron 0.5 mL de extracto y 5 mL de HCl al 10% y se calentaron en baño maría por 5 minutos, asegurando que se mantuviera un volumen de agua constante. Posteriormente, se dejaron enfriar, se filtraron utilizando un papel filtro y se colocaron en un tubo de ensayo limpio. Se seleccionaron dos de los tubos anteriores, a los cuales se les adicionó una gota del reactivo de Dragendorff y a los dos tubos restantes se les añadió una gota del reactivo de Sonneschain.

Prueba para flavonoides: Se disolvieron 0.5 mL en los tubos de ensayo y se les añadieron 2 mL de etanol absoluto. Se seleccionaron dos de estos tubos y se les adicionaron dos gotas de HCl concentrado, mientras que a los dos tubos restantes se les adicionaron tres gotas de NaOH.

Prueba para glicósidos cianogénicos: Se adicionaron 0.5 mL de extracto a dos tubos de ensayo, 1 mL de HCl al 10% y 1 mL de cloroformo. Se colocó un fragmento de papel filtro y, en este, se adicionó una gota del reactivo de Grignard. Posteriormente, los tubos fueron calentados en baño maría de 3 a 5 minutos.

Prueba para azúcares reductores: En un tubo de ensayo se colocaron 4 mL de extracto, se midió el pH y se adicionaron las gotas necesarias de NaOH al 10% para elevar el pH a 11. El contenido el tubo anterior se dividió en cuatro tubos de ensayo (1 mL en cada uno). A dos de ellos se les adicionaron 0.5 mL de reactivo de Fehling A y al resto, 0.5 mL de reactivo de Fehling B. A los otros dos tubos se les realizó la reacción de Benedict, adicionando 0.5 mL de ese reactivo y 1 mL de agua destilada. Posteriormente se colocaron en ebullición por 15 minutos.

Prueba para saponinas: Se adicionó 1 mL de extracto en dos tubos de ensayo, se agitaron por vortex durante un minuto y se dejaron reposar por 30 minutos.

Prueba para taninos: Se adicionaron 2 mL de extracto, 4 mL de agua destilada y 6 gotas de NaCl al 2% a un tubo de ensayo, se calentó en baño María por 1 min y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez enfriado, se filtró el contenido del tubo con un papel filtro y el filtrado resultante se dividió en seis tubos de ensayo. A dos de los tubos se les adicionaron dos gotas del reactivo de gelatina. A otros dos, una gota de cloruro férrico al 1% y a los últimos, dos gotas de ferrocianuro de potasio al 1%.

Prueba para quinonas: Se colocaron 0.5 mL de extracto en cuatro muescas de una cápsula de porcelana y se colocó en calentamiento hasta reducir su volumen en un 60%. La cápsula se retiró del calor y en dos de las muescas se colocó una gota de hidróxido de amonio, mientras que a las muescas restantes se les agregó una gota de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente, se realizó la reacción de Borntrager. Para esto, se diluyeron 0.5 mL de extracto en 3 mL de agua destilada en un tubo de ensayo por duplicado y se filtró con un papel filtro. Al líquido filtrado se le añadieron 3 mL de hidróxido de potasio al 5%, se calentó a ebullición durante 3 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez enfriado, se realizó una extracción empleando 3 mL de cloroformo y se descartó la fase acuosa. A la fracción clorofórmica resultante se le adicionaron 2 mL de hidróxido de potasio al 5%. Si la coloración se tornaba amarillo verdoso, se le agregaba una gota de peróxido de hidrógeno al 6%.

Prueba para cumarinas: Se colocaron 0.5 mL de extracto en dos muescas de una cápsula de porcelana y se colocó en calentamiento hasta reducir su volumen en un 60%. Posteriormente, se les adicionaron dos gotas del reactivo Erlich y una gota de ácido clorhídrico concentrado. Para la reacción con hidróxido de amonio, se colocaron 0.5 mL de extracto, 0.5 mL de etanol y dos gotas de hidróxido de amonio concentrado en dos muescas adicionales.

Prueba para glucósidos cardiacos: Se colocaron 0.5 mL de extracto en dos muescas de una cápsula de porcelana y se colocó en calentamiento hasta reducir su volumen en un 75%. Posteriormente, se adicionaron tres gotas de piridina, una de nitroprusiato de sodio al 5% y cuatro de hidróxido de potasio 2N. Para la reacción de Baljet, se colocaron 0.5 mL de extracto a cada muesca y se concentró al 50% del volumen inicial. Posteriormente, se adicionaron tres gotas del reactivo de Baljet.

Prueba para sesquiterpenlactonas: Se colocaron 0.5 mL de extracto, dos gotas de clorhidrato de hidroxilamina 2N y una gota de hidróxido de potasio 2N en dos muescas de una cápsula de porcelana. Posteriormente, se calentó a ebullición durante 2 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Más adelante, se midió el pH de la muestra y se agregó ácido clorhídrico 0.5N hasta disminuir el pH a 1. Finalmente se agregó una gota de cloruro férrico al 1%.

Prueba para carbohidratos: Se colocaron 2 mL de extracto en un tubo de ensayo, se añadieron 2 mL de ácido sulfúrico y se dejó reposar de 2 a 3 minutos.

Prueba para proteínas: Se adicionó 1 mL de extracto y 1 mL de hidróxido de sodio al 10% a un tubo de ensayo de ensayo y se calentó en baño maría durante 3 minutos. Posteriormente, se retiró del calor y, sin dejar enfriar, se adicionó una gota de sulfato cúprico al 0.7%.

Prueba de aminoácidos: Se tomaron 2 mL de muestra y se adicionaron cinco gotas de ninhidrina al 1%. Posteriormente, se llevó a baño maría por dos minutos.

Cromatografía en capa fina (TLC): Se colocaron las muestras y ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, glicina, fenilalanina y leucina al 1% con ayuda de un capilar en una placa de sílica gel y se usó una mezcla de solventes n-butanol: ácido acético: agua (6:2:2) y se corrió por 60 minutos hasta que la fase móvil cubrió la mayoría de la placa dentro de la cámara, una vez transcurrido el tiempo se roció con una solución de ninhidrina al 0.05% y se aplicó calor para revelar las muestras. Se midió el RF.

Cuantificación de aminoácidos: Se cuantifico la cantidad de ácido aspártico o ácido glutámico mediante la adición de agua de 5 - 2.5 ml, ácido aspártico o glutámico (0.15 g/L) de 0- 2.5 ml y 0.5 mL de ninhidrina (2%) se calentaron a ebullición por 2 minutos y se dejaron enfriar finalmente se adicionaron 5 ml de acetona al 75 %) y se realizó por triplicado, se leyó la absorbancia a 570 nm de acuerdo al método de Portillo (2017) el mismo tratamiento para las muestras, cambiando la proporción del control por el extracto.

Infrarrojo (IR): Los grupos funcionales de los extractos de *Lentinula* fueron evaluados por medio de un espectrómetro de infrarrojo (Spectrum 65, Perkin Elmer). Los espectros fueron procesados con el software Spectrum10®, los espectros resultantes fueron evaluados con el software Spectragryph®.

Identificación molecular de la cepa de *Lentinula*: Para lograr la extracción de ADN genómico de la cepa se usó el kit de extracción ChargeSwitch gDNA Plant (Invitrogen USA). Para la electroforesis se preparó un gel de agarosa al 1% a base de TBE. Para los marcadores se colocó el marcador molecular Lambda Hind III® (Sigma) y el marcador 1 Kb Ladder® (Invitrogen). Posteriormente, se corrieron las muestras con la ayuda de una fuente de poder a 60 V por 45 min. Una vez que se corrió el gel, este se observó y se documentó en el fotodocumentador ChemiDocTMMP Imaging System® (BioRad) y ENDURO TM GDS (Labnet). Con el propósito de amplificar la región ITS (Internal

Transcribed Spacer) de *Lentinula*, se realizó una prueba PCR (Surecycler 8800, Agilent Technologies). Una vez encontrado el fragmento de interés este se purificó y mando a secuenciar a la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología de la UNAM. Los resultados de la secuenciación fueron alineadas y analizadas por el programa Bioedit Sequence Alignment Editor y el programa Mega, determinando la secuencia consenso, las cuales fueron comparadas en la base de datos del GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information) y finalmente comprobando la especie a las que pertenece.

RESULTADOS

Los resultados del porcentaje de humedad de las muestras oscilan entre el 85.52 y 95.32%, los porcentajes mayores corresponden al píleo. Los porcentajes de humedad obtenidos son cercanos a lo reportado por Kwon y Hobbs (2005) para el cuerpo fructífero de *L. edodes* (90.8%). Por otro lado, Nieto et al. (2012), reportan un porcentaje de 89.65 para el estípite de *L. edodes*. La diferencia del porcentaje de humedad entre el píleo y estípite se debe al tamaño del primero con respecto al segundo, ya que estos abarcan una proporción del 75 y 25% del cuerpo fructífero del *L. edodes*, respectivamente (Rivera et al., 2017).

Los valores del rendimiento del estípite fueron de 50 a 53.33% mientras que los valores del píleo fueron de 43.33 a 46.67%. Se han reportado rendimientos de extractos acuosos de otros hongos comestibles para *Pleurotus ostreatus* un 46.9%, un 19.5% para *Agaricus brasiliensis* y un 18.9% para *Ganoderma lucidum* (Torres et al., 2021)

Sobre el análisis preliminar micoquímico se reveló la presencia de alcaloides, azúcares reductores y aminoácidos en el estípite (6, 12 y 15 h) y píleo (15 h). Para la reacción de Dragendorff, la prueba se consideró positiva al presentar precipitados de color naranja en los cuatro extractos analizados, evidenciando la presencia de alcaloides en dichas muestras. La prueba de azúcares reductores dio positiva con la reacción de Benedict presentando precipitados color naranja. Entre el 58 y 60% de *L. edodes* seco corresponde a carbohidratos (He, s.f.) y según Finimundy et al. (2014), la arabinosa es uno de los carbohidratos con mayor presencia en *L. edodes*, además de trealosa, glicerol, manitol, arabinol y manosa. Respecto a la prueba de aminoácidos, Li et al (2017) y Zhang et al (2015) indican que *Lentinula edodes* fresco contiene hasta 13 aminoácidos, mientras que Harada-Paderno (2020) reporta al menos dos aminoácidos (ácido glutámico y ácido aspático) en extractos de este hongo. Al realizar la cromatografía se observaron los Rf promedio de los aminoácidos estándar de 0.27, 0.36, 0.38, 0.29, 0.63 y 0.63 para ácido aspático, ácido glutámico, alanina, glicina, fenilalanina y leucina, respectivamente. Se observó que en ambas placas se aprecia que todos los extractos presentaron un patrón uniforme con respecto a desplazamiento y color. Los Rf correspondientes a cada uno de los extractos A (píleo) y B (estípite) se enlistan en el cuadro 1, y al ser comparados con estándares existe una similitud en los Rf, por lo que podemos decir que en los extractos se tiene la presencia de ácido aspático, ácido glutámico, alanina, fenilalanina y leucina. Córdova (2021) empleó como fase móvil n-butanol-Ácido acético-agua (6:2:2) e indicó que el ácido glutámico y la alanina migraron cerca entre ellos, con un Rf de 0.36 y 0.37, respectivamente; similar a lo reportado en este trabajo. De igual forma, reportó un Rf de 0.62 para la glicina y leucina, en cambio un Rf de 0.27 para el ácido aspático. Además, se propone la presencia de triptófano (0.66), valina (0.53) y cisteína (0.15) de acuerdo a los Rf reportados por Córdova (2021).

Cuadro 1. Rf calculados de los extractos de *L. edodes*.

	Cromatografía			Cromatografía			
	6 h	9 h	15 h	12 h píleo	12 h	15 h píleo	15 h
	estípite	estípite	píleo		estípite		estípite
Rf 1	0.10	0.12	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Rf 2	0.28	0.28	0.28	0.25	0.28	0.27	0.28
Rf 3	0.37	0.38	0.38	0.33	0.37	0.35	0.37
Rf 4	0.47	0.47	0.48	0.43	0.43	0.43	0.45
Rf 5	0.53	0.53	0.55	0.50	0.52	0.52	0.53

Rf 6	0.62	0.63	0.65	0.62	0.62	0.62	0.63
Rf 7	0.68	0.70	0.70	0.68	0.68	0.70	0.70

Para la cuantificación de ácido aspártico y ácido glutámico, se puede apreciar en las Figuras 1 y 2, los extractos A presentaron una mayor concentración de ácido glutámico y aspártico (4.27×10^{-4} a 7.57×10^{-4} mg/mL y 7.87×10^{-4} a 1.39×10^{-4} mg/mL, respectivamente) en comparación con los extractos B (1.24×10^{-4} a 2.26×10^{-4} mg/mL y 2.1×10^{-4} a 4.19×10^{-4} mg/mL, respectivamente). Además, se observa que dicha concentración en los primeros extractos se incrementa respecto al tiempo de secado; mientras que en los extractos B, esta concentración disminuye después de las 9 h.

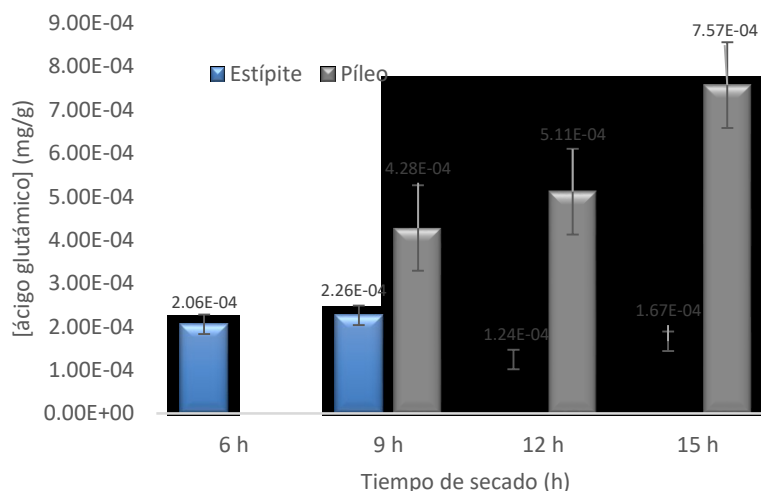


Figura 1. Concentración de ácido glutámico en extractos A y B de *L. edodes*.

La concentración máxima encontrada en los extractos líquidos de *L. edodes* fue de 7.6×10^{-4} mg/mL y de 1.4×10^{-3} mg/mL para el ácido glutámico y ácido aspártico, respectivamente, en el extracto A (15 h). En contraste, la concentración mínima de estos aminoácidos se presentó en el extracto B (12 h) alcanzando una concentración de 1.24×10^{-4} mg/mL y 2.1×10^{-4} mg/mL para el ácido glutámico y aspártico, respectivamente. La mayor concentración de aminoácidos en los extractos A con respecto a los B, es similar a lo reportado por Cho et al. (2010), que indican que el contenido de ribonucleótidos y de aminoácidos que evocan el gusto umami fue mayor en el píleo que en el estípite del hongo *Tricholoma matsutake*.

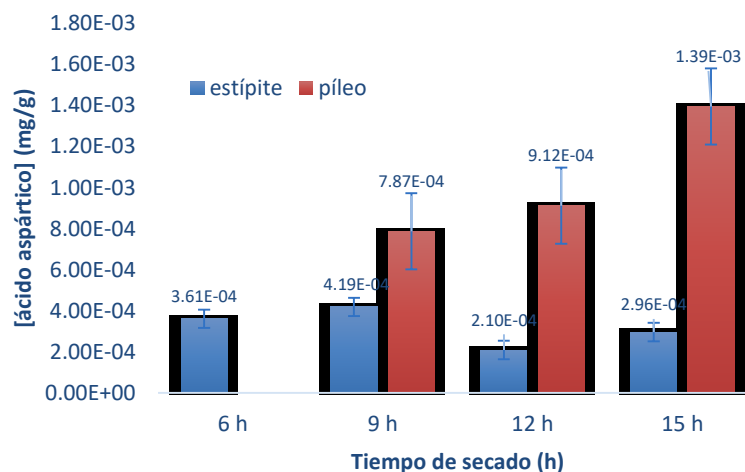


Figura 2. Concentración de ácido aspártico en extractos A y B de *L. edodes*.

Los espectros de infrarrojo de los extractos de *L. edodes* A y B, se aprecian en la Figura 3 y Figura 4, respectivamente.

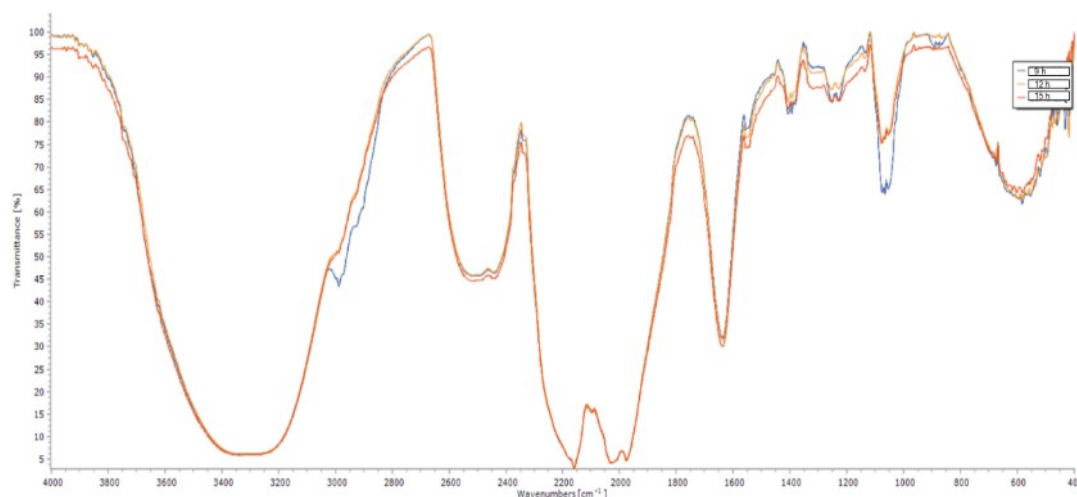


Figura 3. Espectros correspondientes a los extractos del pileo (extractos A) de *L. edodes* a diferentes tiempos de secado.

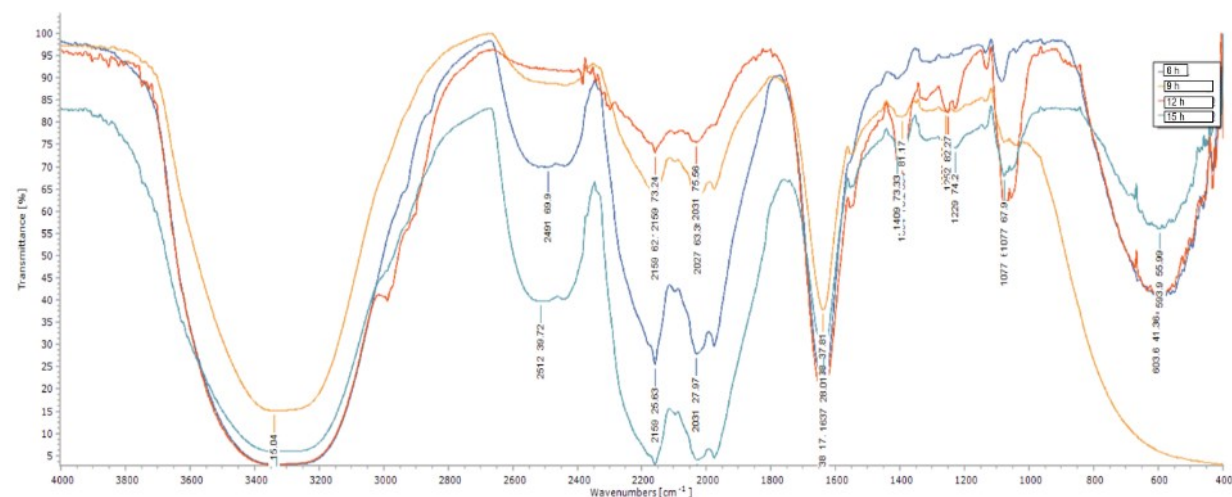


Figura 4. Espectros correspondientes a los extractos del estípite (extractos B) de *L. edodes* a diferentes tiempos de secado.

En la región $4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ (descartando la región de “huella dactilar”) para ambos extractos (A y B), se observan cinco picos característicos en las frecuencias: $3400\text{--}3200$, alrededor de 2500 , 2159 , 2030 y 1638 cm^{-1} , correspondientes a los grupos funcionales que se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2.- Grupos funcionales identificados en los extractos A y B de *L. edodes*.

Grupo funcional	Frecuencia (cm^{-1})
N-H y O-H	3330
C=O	2159
C=C	1638

Para la identificación del hongo se recurrió a la aplicación de la prueba de PCR, el cual generó un producto amplificado en 800 pb aproximadamente el cual fue visualizado en gel de agarosa al 1%. El fragmento obtenido se purificó, secuenció y se comparó con la base de datos del NCBI, el ADN secuenciado corresponde a *Lentinula edodes* con un 94.89% de identidad. Sánchez-Hernández et

al. (2015) reportaron un resultado similar durante la identificación de cepas de *Lentinula* y *Pleurotus*, al obtener bandas de ADN entre 700 y 800 pb que posteriormente fueron identificadas como *Lentinula edodes* (99% de identidad), *Pleurotus ostreatus* (100% de identidad) y *Pleurotus eryngii* (99% de identidad).

CONCLUSIONES

Se determinó la presencia de alcaloides, azúcares reductores y aminoácidos en los extractos acuosos de *Lentinula* mediante el preliminar micoquímico.

Se detectó la presencia de aminoácidos: ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, y leucina en los extractos mediante cromatografía en capa fina.

Se determinó que la mayor concentración de ácido glutámico y aspártico se presentó en el píleo en comparación del estípite.

Se identificó la especie de *Lentinula edodes* con técnicas de biología molecular.

BIBLIOGRAFIA

Cho, I., Choi, H., y Kim, Y. (2010). Comparison of umami-taste active components in the pileus and stipe of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades. Food Chemistry, 118(3), 804-807.

Córdova, A. (2021). Determinación del perfil de aminoácidos libres en órganos vegetativos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo distintas fuentes de nitrógeno y en frutos de diferente grado de desarrollo. Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C.

Finimundy, T., Dillon, A., Henriques, J. y Roesch, M. (2014). A review on general nutritional compounds and pharmacological properties of the *Lentinula edodes* mushroom. Food and Nutritional Sciences 5, 1095-1105.

Harada-Paderno, S., Silva, L., Mabel, M., Dutra, I., Segal, E., Ferreira, A., Bogusz, S., Tadeu, C., Conti, A. y Ferreira de Souza, T. (2020). Umami ingredient: flavor enhancer from shiitake (*Lentinula edodes*) byproducts. Food Research International 137.

He, H. (s.f.). Influencia del procesado y de la matriz alimentaria en la bioaccesibilidad de un extracto hipocolesterolémico obtenido de la seta shiitake (*Lentinula edodes*). Másteres de la UNAM 2018-2019. Universidad autónoma de Madrid.

Kwon, H. y Hobbs, C. (2005). Nutritional and medicinal values of shiitake. En MushWorld (Ed.). Shiitake cultivation. Mushroom Growers' Handbook 2 (pp 1-22). ISSN 1739-1377.

Li, B., Muinde, B., Pei, F., Chen, S., Feng, X., Qihui, H. y Zhao, L. (2017). Non-volatile flavour components in *Lentinus edodes* after hot water blanching and microwave blanching. International Journal of Food Properties, 20(53), 2532-2542.

Martínez, D., Sobal, M., Morales, P., Bonilla, M., Pérez, B., Mayett, Y., Martínez, W. y Montiel, E. (2010). Importancia de la producción de hongos comestibles, funcionales y medicinales en la alimentación y el desarrollo nacional. Agro Productividad, 3(3), 15-21.

Martínez-Carrera, D. (2020). Presentación. En Mata G., Gaitán-Hernández R. y Salmones D. (Eds.), El cultivo del shiitake: Tecnología e innovación en la producción de un alimento y medicina ancestral (pp. 11-12). Instituto de Ecología. ISBN: 978-607-7579-92-2.

Mata, G., Gaitán, R., Salmones, D. (2020). El cultivo del shiitake: tecnología e innovación en la producción de un alimento y medicina ancestral. Instituto de Ecología A.C. ISBN: 978-607-7579-92-2.

Nieto-Ramírez, I., Rojas-Luna, R. y Suárez, C. (2012). Evaluación del estípite de shiitake como aportante de fibra y bioactivos con miras a su empleo en alimentos funcionales. Vitae, 19(1), 331-333.

Phat C., Moon B. y Lee C. (2016). Evaluation of Umami Taste in Mushroom Extracts by Chemical Analysis, Sensory Evaluation, and an Electronic Tongue system. Food Chemistry; 192, 1068-1077

Portillo, A. (2017). Bioquímica. Manual de prácticas. Universidad Autónoma de Baja California.

Reis, F., Martins, A., Barros, L. y Ferreira, I. (2012). Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. Food and Chemical Toxicology, 50.

- Rivera O., Albarracín W. y Lares M. (2017). Componentes Bioactivos del Shiitake (*Lentinula edodes* Berk. Pegler) y su Impacto en la Salud. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica 36(3); 67-71.
- Rivera, O., Albarracín, W. y Lares, M. (2017). Componentes bioactivos del shiitake (*Lentinula edodes* Berk. Pegler) y su impacto en la salud. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, 36(3), 67-71.
- Sánchez-Hernández, A., Valencia Del Toro, G., Aguilar-Doroteo, L., Leal-Lara, H., Garín-Aguilar, M., Villanueva-Arce, R. y Ramírez-Carrillo, R. (2015). Identificación molecular de cepas de *Lentinula* y *Pleurotus*. Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.
- Torres-Martínez, B., Vargas-Sánchez, R., Ibarra-Arias, F., Ibarra-Torres, E., Torrescano-Urrutia, G. y Sánchez-Escalante, A. (2021). Effect of extraction solvent on chemical composition, physicochemical and biological properties of edible mushrooms extracts. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 24, 1-10.
- Zhang, Y., Hartung, N., Fraatz, M. y Zorn, H. (2015). Quantification of key odor-active compounds of a novel nonalcoholic beverage produced by fermentation of wort by shiitake (*Lentinula edodes*) and aroma genesis studies. Food Research International, 70, 23-30.
- Zhang, Y., Hartung, N., Fraatz, M. y Zorn, H. (2015). Quantification of key odor-active compounds of a novel nonalcoholic beverage produced by fermentation of wort by shiitake (*Lentinula edodes*) and aroma genesis studies. Food Research International, 70, 23-30.

EFFECTOS DEL ZINC EN LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DE NITRÓGENO, FÓSFORO Y POTASIO EN LECHUGA

Imelda Rueda-López^{1*}, Fresia Pacheco-Sangerman¹, María Guadalupe Peralta-Sánchez¹,
Fernando C. Gómez-Merino², Libia I. Trejo-Téllez¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología, Texcoco, Estado de México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Fisiología Vegetal, Texcoco, Estado de México.
arueda.3001@gmail.com

RESUMEN

El zinc (Zn) es un elemento esencial en sistemas biológicos, donde es encontrado en su forma oxidada como catión divalente (Zn^{2+}). En células vegetales, el Zn es un micronutriente que participa en diversos procesos metabólicos como activación de enzimas, síntesis de proteínas, metabolismo de lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos; asimismo, es parte estructural de los dedos de Zn (factores de transcripción que controlan la proliferación y diferenciación celular). Desempeña un papel fundamental en el desarrollo y la función de los cloroplastos; su deficiencia inhibe el crecimiento, la tolerancia al estrés y la síntesis de clorofilas. Cada genotipo vegetal requiere una dosis específica de Zn; por tanto, en esta investigación, se evaluó el efecto de diferentes dosis de Zn en la concentración foliar de N, P y K de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cv. Starfighter establecida en un sistema hidropónico de raíz flotante. Las dosis de Zn evaluadas fueron 0.1, 0.2 y 0.3 mg L⁻¹, aplicadas como ZnSO₄ 7H₂O a la solución nutritiva. Los tratamientos fueron aplicados por 48 d y posteriormente, se determinaron las concentraciones foliares de N, P y K en material seco y molido. El método micro-Kjeldahl se empleó en la cuantificación de N; mientras que, P y K se determinaron en el extracto resultante de digestión ácida mediante espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$). La concentración foliar de N fue reducida en plantas tratadas con 0.3 mg Zn L⁻¹, con valores menores de 3.3% en promedio al resto de tratamientos. En lo que respecta al P, la concentración foliar se relacionó en forma negativa con la dosis de Zn; es decir, plantas tratadas con 0.2 y 0.3 mg Zn L⁻¹ presentaron menor concentración foliar de P en 11 y 15.5%, respectivamente, en comparación con el tratamiento 0.1 mg Zn L⁻¹. La misma tendencia que en P fue observada en la concentración foliar de K; con reducciones de 2.1 y 12.6% con las dosis 0.2 y 0.3 mg Zn L⁻¹, respectivamente, en comparación con el testigo. Se concluye que en lechuga cv. Starfighter la dosis de Zn que no tiene efectos negativos en la absorción de N, P y K es la de 0.1 mg Zn L⁻¹.

INTRODUCCIÓN

En plantas superiores, el zinc (Zn) es un micronutriente que cumple un papel vital como componente metálico y cofactor de muchas enzimas, como la anhidrasa carbónica, carboxipeptidasa y superóxido dismutasa Cu-Zn (Cabot *et al.*, 2019), interviene en el funcionamiento de las membranas, la fotosíntesis, la expresión genética y la defensa contra la sequía y los patógenos (Hefferon, 2019). El Zn mejora el crecimiento y desarrollo de las plantas debido a su papel como cofactor en la biosíntesis del aminoácido triptófano que actúa como precursor de auxinas (García-López *et al.*, 2018). La deficiencia de Zn disminuye la calidad y el rendimiento de los cultivos; lo que destaca la importancia de mantener niveles adecuados de Zn para una productividad óptima (Muhammad *et al.*, 2022).

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una de las hortalizas de hoja más importantes a nivel económico en el mundo (Wardany y Anjawati, 2020). En Latinoamérica, los mayores productores de esta hortaliza son México y Chile con 370,066 y 101,559 ton, respectivamente (FAO, 2020). La lechuga tiene la ventaja agronómica de presentar un ciclo vegetativo corto, lo que permite su producción durante todo el año, se cultiva de manera intensiva a cielo abierto, en invernadero o sistemas hidropónicos (Saavedra *et al.*, 2017). Existen cinco tipos principales de lechuga: lechuga mantecosa

o Boston, lechuga crujiente o Iceberg, lechuga romana o Cos, lechuga de hoja o cortada, lechuga de tallo o espárrago (Křístková *et al.*, 2008).

Cada genotipo vegetal requiere una dosis específica de Zn; por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del suministro de diferentes dosis de Zn en la concentración foliar de N, P y K de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cv. Starfighter en un sistema hidropónico de raíz flotante.

TEORÍA

Elementos esenciales en las plantas

Existen 17 elementos esenciales que las plantas requieren para completar su ciclo de vida y se dividen en macro y micronutrientes. Dentro de los primeros se encuentra el C, H y O, los cuales representan el 95% de la materia seca. El N, P, K, Ca, Mg y S son necesarios en altas cantidades, pues constituyen alrededor del 0.1% de la materia seca de los tejidos de la planta. Mientras que los micronutrientes: Fe, Mn, Zn, Cu, B, Cl, Mo y Ni se requieren en cantidades pequeñas y por lo general su acumulación en la materia seca es inferior al 0.01% (Pilon-Smits *et al.*, 2009).

Importancia del Zn

El Zn es un elemento esencial en sistemas biológicos, donde es encontrado en su forma oxidada como catión divalente (Zn^{2+}) (Andreini *et al.*, 2006). El Zn es un micronutriente importante para las plantas, ya que participa en muchas funciones celulares clave, como procesos metabólicos y fisiológicos, activación enzimática y homeostasis de iones (Hamzah-Saleem *et al.*, 2022); asimismo, este elemento es parte estructural de los denominados dedos de Zn, factores de transcripción que controlan la proliferación y diferenciación celular (Sharma *et al.*, 2013). El Zn desempeña un papel importante como constituyente de más de 300 enzimas, siendo el único elemento presente en las seis clases de enzimas (liasas, transferasas, hidrolasas, isomerasas, oxidoreductasas y ligasas). El Zn interviene en la integridad estructural de los ribosomas, en la regulación y activación de genes, la síntesis de proteínas y el metabolismo de los carbohidratos (Zaheer *et al.*, 2020). Además, el Zn interactúa con los fosfolípidos y los grupos sulfhidrilo de las proteínas de membrana mejorando su estabilidad (Kareem *et al.*, 2022).

Dosis óptimas de Zn

Los niveles óptimos de Zn son cruciales en diversos procesos fisiológicos, afectan el crecimiento, la fotosíntesis y productividad. La deficiencia de Zn disminuye el desarrollo de las plantas; mientras que, el exceso puede provocar toxicidad. En los cultivos, los efectos del Zn dependen de la concentración, el tiempo de exposición, el genotipo y la etapa de desarrollo de la planta (Balafrej *et al.*, 2020). Optimizar las dosis nutrimentales beneficia a los agricultores en términos de rentabilidad y productividad, y promueve prácticas agrícolas sostenibles y respetuosas con el medio ambiente (Bashir *et al.*, 2022).

PARTE EXPERIMENTAL

Condiciones de crecimiento

El experimento se realizó bajo condiciones de invernadero, en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Montecillo, México. Plántulas de lechuga cv. Starfighter de 40 d de edad, se colocaron en un sistema hidropónico de raíz flotante, en contenedores de plástico (Cubasa, 1566 TSS, México) de 900 mL de capacidad, con solución nutritiva Steiner (Steiner, 1984). La oxigenación se aportó con bombas de pecera (Elite, HA800, China) y manguera de polietileno de 4 mm, conectadas a un temporizador digital (Stereon, TEMP-08E, México) de ocho eventos, programado cada 3 h con tiempos de oxigenación de 15 min.

Diseño experimental y tratamientos

Se condujo un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos y tres repeticiones. Las dosis de Zn evaluadas fueron 0.1, 0.2 y 0.3 mg L⁻¹, aplicado como ZnSO₄ 7H₂O (Fermont; Monterrey, México) a la solución nutritiva. La unidad experimental fue una planta de lechuga colocada en el contenedor antes descrito. Los tratamientos iniciaron en plantas de 50 d y fueron

aplicados por 48 d, el agua evaporada se repuso cada 3 d. El pH de la solución se ajustó a 5.5 usando H_2SO_4 1 N.

Concentración de N, P y K

Al finalizar la cosecha las hojas se secaron en una estufa de aire forzado (Riossa, HCF-125; Guadalajara, México) a 70 °C por 72 h, posteriormente el tejido seco se molió hasta obtener partículas menores a 2 mm.

Para la determinación de N se pesaron 0.25 g de cada muestra vegetal y se sometieron a digestión húmeda con una mezcla biácida de $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{HClO}_4$ (2:1, v:v) y 1 mL de H_2O_2 al 30%, en una plancha de digestión a 350 °C. Al término de la digestión, los extractos obtenidos se filtraron y se aforaron a 25 mL con agua desionizada. El N se evaluó con el método micro-Kjeldahl. Un volumen de 10 mL del extracto resultante se destiló adicionando NaOH al 50%. El destilado se recibió en H_3BO_3 al 20% con una mezcla de indicadores (rojo de metilo y verde de bromocresol), la titulación se realizó con H_2SO_4 0.05 N.

Por su parte, para la cuantificación de P y K se pesaron 0.5 g de cada muestra vegetal, se adicionó una mezcla de $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (2:1, v:v) y se colocaron en una plancha de digestión a 160 °C. Posteriormente las muestras se filtraron y aforaron a 25 mL con agua desionizada. Las concentraciones de los elementos antes referidos se leyeron mediante espectroscopia de emisión atómica de inducción por plasma acoplado (Agilent, ICP-Optical Emission Spectrometer, 725-ES, EE. UU.).

Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), para lo cual se utilizó el software estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute, 2009) versión 9.4.

RESULTADOS

En microvegetales de Brassicaceae, la aplicación con Zn mostró efectos diferenciales en la absorción nutrimental. La concentración foliar de P incrementó a medida que los niveles de Zn aumentaron en la solución nutritiva; mientras que, la concentración foliar de K no se vio afectada por las dosis de Zn (Di Gioia *et al.*, 2019). Por su parte, plantas de lechuga tratadas con Zn incrementaron las concentraciones foliares de N, K, P, Fe y Zn (Al-Hamdani y Al-Khazraji, 2022). En esta investigación, la concentración foliar de N se redujo significativamente en plantas tratadas con 0.3 mg Zn L⁻¹, con valores menores en 3.3% al del resto de tratamientos en promedio (Figura 1A).

En lo que respecta al P, la concentración foliar se relacionó en forma negativa con la dosis de Zn; es decir, plantas tratadas con 0.2 y 0.3 mg Zn L⁻¹ presentaron menor concentración foliar de P en 11 y 15.5%, respectivamente, en comparación con el tratamiento 0.1 mg Zn L⁻¹ (Figura 1B).

La misma tendencia que en P fue observada en la concentración foliar de K; con reducciones de 2.1 y 12.6% con las dosis 0.2 y 0.3 mg Zn L⁻¹, respectivamente, en comparación con la dosis 0.1 mg Zn L⁻¹ (Figura 1C).

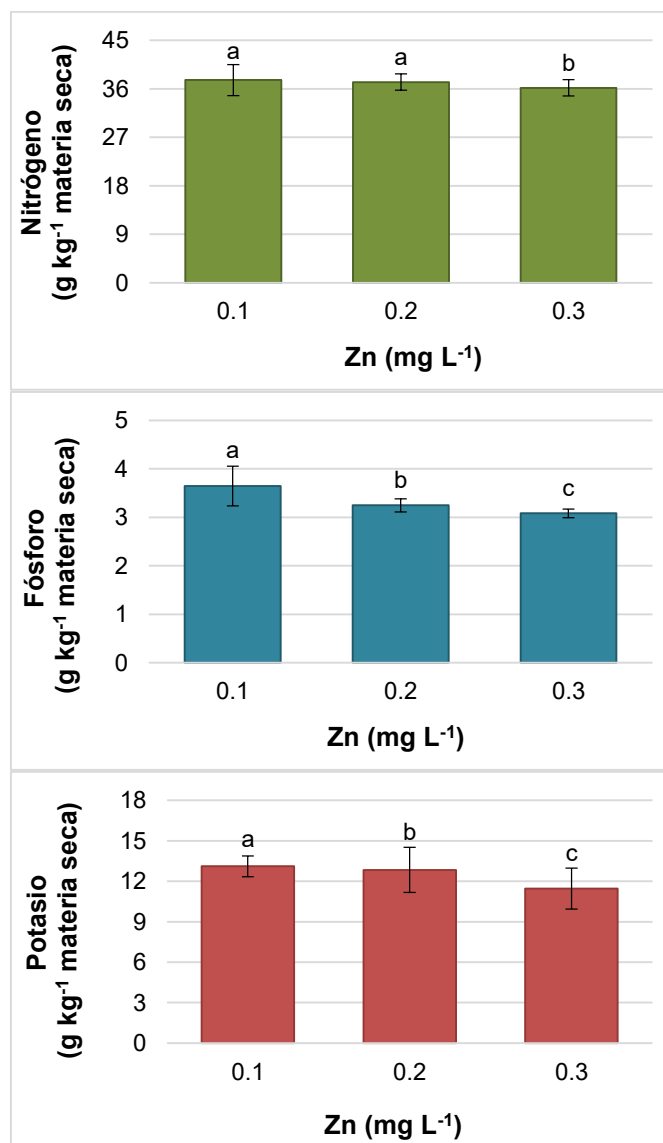


Figura 1. Concentraciones foliares de N, P y K en lechuga cv. Starfighter tratada con diferentes dosis de Zn. Medias $\pm$ DE en cada subfigura con letras distintas, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que la dosis 0.1 mg Zn L⁻¹ de solución nutritiva, incrementan significativamente la concentración en hojas de N, P y K en lechuga cv. Starfighter establecida en un sistema hidropónico de raíz flotante. Asimismo, dosis mayores, se relacionan de manera negativa con las concentraciones de estos elementos.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Sharma, B. Patni, D. Shankhdhar, S. C. Shankhdhar, "Zinc -An indispensable micronutrient", *Physiology and Molecular Biology of Plants*, Vol. 19, 1, 2013, pp. 11-20. <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0139-1>
2. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture", Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633-650.

3. C. Andreini, L. Banci, I. Bertini, A. Rosato, "Zinc through the three domains of life", *Journal of Proteome Research*, Vol. 5, 11, 2006, pp. 3173-3178. <https://doi.org/10.1021/pr0603699>
4. C. Cabot, S. Martos, M. Llugany, B. Gallego, R. Tolrà, C. Poschenrieder, "A role for zinc in plant defense against pathogens and herbivores", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 10, 1171, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01171>
5. E. A. Pilon-Smits, C. F. Quinn, W. Tapken, M. Malagoli, M. Schiavon, "Physiological functions of beneficial elements", *Current Opinion Plant Biology*, Vol. 12, 3, 2009, pp. 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.009>
6. E. Křístková, I. Doležalová, A. Lebeda, V. Vinter, A. Novotná, "Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources", *Horticultural Science*, Vol. 35, 3, 2008, pp. 113-129. <https://doi.org/10.17221/4/2008-HORTSCIA>
7. F. Di Gioia, S. A. Petropoulos, M. Ozores-Hampton, K. Morgan, E. N. Rosskopf, "Zinc and iron agronomic biofortification of Brassicaceae microgreens", *Agronomy*, Vol. 9, 11, 677, 2019. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110677>
8. F. M. A. Al-Hamdani, S. N. F. Al-Khazraji, "Effect of iron and zinc spray and nitrogen fertilization levels on some nutrients concentration in lettuce (*Lactuca sativa* L.)", *AIP Conference Proceedings*, Vol. 2394, 1, 2022. <https://doi.org/10.1063/5.0121897>
9. F. Muhammad, M. M. U. Haq, M. D. Khan, M. Shafique, S. Bashir, S. U. Alizai, M. S. Khan, A. Irum, M. M. Raza, "Unlocking the potential of zinc (Zn) efficiency for enhanced crop production in low-Zn environments", *Indus Journal of Agriculture and Biology*, Vol. 1, 1, 2022, pp. 33-45.
10. FAO, "Lechuga y achicoria". 2020. Recuperado el 20 de mayo de 2024 Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#search/produccion%20de%20lechuga>.
11. G. Saavedra, F. Corradini, A. Antúnez, "Manual de producción de lechuga", INIA. Santiago, Chile. 2017, p. 26.
12. H. A. Kareem, M. U. Hassan, M. Zain, A. Irshad, N. Shakoor, S. Saleem, J. Niu, M. Skalicky, Z. Chen, Z. Guo, Q. Wang, "Nanosized zinc oxide (n-ZnO) particles pretreatment to alfalfa seedlings alleviate heat-induced morpho-physiological and ultrastructural damages", *Environmental Pollution*, Vol. 303, 119069, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119069>
13. H. Balafrej, D. Bogusz, Z. E. A. Triqui, A. Guedira, N. Bendaou, A. Smouni, M. Fahr, "Zinc hyperaccumulation in plants: a review", *Plants*, Vol. 9, 5, 562. 2020. <https://doi.org/10.3390/plants9050562>
14. I. E. Zaheer, S. Ali, M. H. Saleem, M. Ali, M. Riaz, S. Javed, A. Sehar, Z. Abbas, M. Rizwan, M. A. El-Sheikh, M. N. Alyemeni, "Interactive role of zinc and iron lysine on *Spinacia oleracea* L growth, photosynthesis and antioxidant capacity irrigated with tannery wastewater", *Physiology and Molecular Biology of Plants*, Vol. 26, 12, 2020, pp. 2435-2452. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00912-0>
15. J. I. García-López, F. Zavala-García, E. Olivares-Sáenz, R. H. Lira-Saldívar, E. Díaz Barriga-Castro, N. A. Ruiz-Torres, E. Ramos-Cortez, R. Vázquez-Alvarado, G. Niño-Medina, "Zinc oxide nanoparticles boosts phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annuum* L. during germination", *Agronomy*, Vol. 8, 10, 215, 2018. <https://doi.org/10.3390/agronomy81002115>.
16. K. Hefferon, "Biotechnological approaches for generating zinc-enriched crops to combat malnutrition", *Nutrients*, Vol. 11, 2, 253, 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11020253>
17. K. Wardany, S. Anjarwati, "Growth of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) plant in light organic fertilizer media from goat and rabbit dirty", *International Journal of Education & Curriculum Application*, Vol. 3, 1, 2020, pp. 22-25. <https://doi.org/10.31764/ijeca.v3i1.2043>
18. M. Bashir, M. A. Bhat, S. Sharma, N. Rana, S. Fayaz, S. Iqbal, R. Gull, R. Tun-Nisa, W. B. Ul Islam, D. Patyal, "Efficient nutrient management in field crops for food and environmental safety", *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, Vol. 23, 2022, pp. 58-67.
19. M. Hamzah-Saleem, K. Usman, M. Rizwan, H. Al Jabri, M. Alsafran, "Functions and strategies for enhancing zinc availability in plants for sustainable agriculture", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 13, 1033092, 2022. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1033092>
20. SAS Institute Inc., SAS/STAT Software: Changes and Enhancements, Release 6.10, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2009.

CRECIMIENTO DE PROTOZOARIOS CILIADOS DE VIDA LIBRE EN MEDIO TRIGO

Rocío Margarita Ahuatzí Rodríguez, Maribel Quezada Cruz, María Yesenia Sánchez Zepeda

Laboratorio de Biotecnología Ambiental, División Químico Biológicas, Universidad Tecnológica de Tecámac, Edo. de México.

ahuatzimargarita@gmail.com, *maryquezada9@gmail.com

RESUMEN

Los protozoarios son microorganismos eucariotas con una importancia en el área ambiental, debido a su gran potencial en degradación de contaminantes (hidrocarburos y polietileno) y en la acumulación de metales pesados. Sin embargo, para su estudio es necesario hacerlos crecer en cantidades considerables y condiciones puras. Este trabajo tuvo como propósito aplicar una técnica de cultivo para protozoarios ciliados de vida libre, para su uso posterior en proyectos de acumulación de metales pesados. Se probaron tres medios de cultivo; trigo y BE; se reguló el pH en un rango de 7-7.5, se incubaron en oscuridad con una agitación manual tres veces al día, a una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ y con un cambio del 50% del medio cada 72 hrs. La identificación de los géneros de protozoarios se realizó disminuyendo su movimiento con lugol al 0.5% y se observó su morfología, movimiento y tamaño. De los tres medios empleados, el de trigo presentó crecimiento, mientras que el medio BE no. El crecimiento en medio trigo duró 14 días con una fase exponencial a partir del día 2 y hasta el día 5, donde se tuvo un crecimiento máximo 2.23×10^7 protozoarios ciliados/100 mL. A partir del sexto día el crecimiento fue paulatino para convertirse en estacionario a partir del día 13. El testigo no presentó crecimiento. Ambos protozoarios crecidos en el medio contaron con cilios en todo el cuerpo y se diferenciaron por forma y tamaño. El más pequeño fue identificado como *Tetrahymena* sp. y el más grande con forma de suela de zapato como *Paramecium* sp.

INTRODUCCIÓN

Los protozoos son organismos diversos y simples con características del reino animal, ya que son móviles y heterótrofos. Debido a su tamaño pequeño y a la producción de quistes que les permiten resistir a las condiciones medioambientales adversas, muchas especies son cosmopolitas (Cairns y Ruthven, 1972). Algunos forman colonias con pocos o numerosos individuos, todos iguales; sin simetría o con simetría bilateral, radial o esférica. Se encuentran en todo el mundo, en muy diversos hábitats. La mayoría son de vida libre, aunque se pueden encontrar en los animales superiores como parte de su flora intestinal, cumpliendo un importante papel en la digestión de los alimentos y el suministro de nutrientes al hospedero en forma de proteína microbiana, ácidos grasos volátiles y vitaminas (Álvarez, 2017; Nagoba y Pichare, 2020).

TEORÍA

Protozoarios Ciliados de vida libre

De acuerdo con Aladro (2009), menciona que los ciliados son protozoos caracterizados por presentar cilios por lo menos en una etapa de su ciclo de vida, por exhibir dualismo nuclear y llevar a cabo el proceso sexual conocido como conjugación. Son considerados como el grupo de protozoos más homogéneo, por lo que su monofilia es ampliamente reconocida.

Según Jones (1974), menciona que la longitud de las células de los ciliados varía entre 10 μm y 300 μm . Mientras que Macek et al. (2008), hacen mención que son organismos generalmente solitarios, pero que también se manifiestan en formas coloniales, son heterótrofos y en algunas especies se ha documentado la mixotrofia.

Estos microorganismos se caracterizan por moverse y capturar el alimento mediante sus cilios. Ciliados como *Paramecium*, se hacen distintivos por poseer unas bocas celulares constantes o citofaringe (Figura 4) por donde atrapan el alimento, éste es transportado por las vacuolas alimenticias que migran por una vía dentro del cuerpo del ciliado, para finalmente expulsar los residuos digestivos por un punto fijo situado a menudo en o cerca de la citofaringe. Las vacuolas contráctiles se encuentran localizadas en posiciones fijas cerca de la superficie celular, y en muchos

de los casos los canales citoplasmáticos definidos forman un sistema interno de drenaje que desemboca en estas vacuolas. Justo por debajo de esta superficie se encuentra un sistema complejo de neurofibrillas de coordinación, y en muchas especies también hay presentes unas miofibrillas contráctiles (Carolina, 2001).

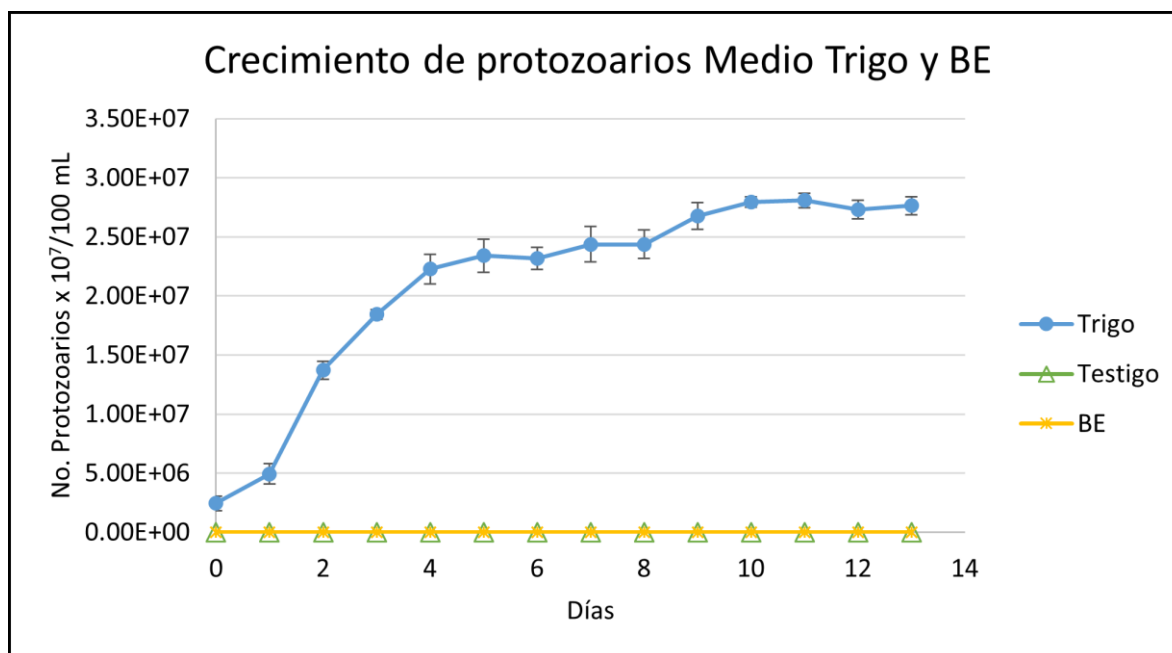
La fisión binaria es mecanismo de reproducción asexual más común en el ciclo de la vida de los ciliados, en donde la célula parental se divide en 2 células (clonas) mediante la citocinesis y cariocinesis; la gemación es frecuente en las especies sésiles. En el proceso sexual de la conjugación, en el cual 2 células se fusionan parcialmente, 1 de los núcleos haploides derivados del micronúcleo por meiosis se intercambia y permite la recombinación génica; posteriormente este núcleo gamético migratorio se fusiona con el núcleo gamético estacionario (cariogamia) y se forma el sincarion que se divide 2 veces para formar macronúcleos y micronúcleos, hasta restablecer la condición nuclear de la especie. Este proceso sexual, junto con otro denominado autogamia, se presenta ante diversos estímulos, como la falta de alimento, cambios de temperatura y luz (Lynn, 2008).

PARTE EXPERIMENTAL

Se recolectó, en un vaso precipitado de 600 mL, agua de estanque en el municipio de Tecámac. A continuación, en un portaobjetos se adicionó 125 μ L de muestra, se colocó un cubreobjetos y se observó en el microscopio (Marca Primo Star y modelo 415500-0051-00) para identificar y asegurar la presencia de protozoarios ciliados de vida libre. Se lavo todo el material a ocupar con agua y jabón, posteriormente se roció con alcohol y se dejó secar. Para el medio trigo se trituro 7 granos de trigo en un mortero con pistilo y se agregaron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, sucesivamente se adicionó 250 mL de agua destilada. Para el medio BE se preparó una solución madre con 25.8 mg de acetato de sodio, 50.0 g de peptona, 15.8 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 11.0 mg de KH_2PO_4 , 3.5 KCL y 0.8 g de extracto de levadura, en un matraz aforado de 250 ml, se aforó lo pesado con agua destilada. Posteriormente se agregó 7ml de la solución madre en un matraz Erlenmeyer de 500 ml y se complementó con 193 ml de agua destilada. Posteriormente se hizo un tapón de algodón y gasa, se colocó en los matraces, seguido de un gorro de papel aluminio. El matraz se llevó a esterilizar en autoclave a una temperatura de 121 °C, 15 lb/pulg² durante 15 minutos. A continuación, en área estéril se tomó de forma inicial el pH del medio, una vez confirmado su rango (6-7), se inoculó con 25ml de la muestra de estanque el matraz de medio trigo y medio BE. Se incubaron ambos matraces a oscuridad parcial en una caja de cartón, a temperatura ambiente y se realizó agitación manual de 3 a 5 veces por día. Se llevo a cabo un cambio de medio cada 3 días, remplazando el 90% del medio en el mismo matraz. El conteo fue en portaobjetos siguiendo un zig zag en todo el campo visible.

RESULTADOS

Se presentó un crecimiento de protozoarios ciliados en medio trigo y BE durante 14 días. Se observó mayor presencia de protozoarios del género *Paramecium* que del género *Tetrahymena*. Para medio trigo se obtuvo un crecimiento exponencial del día cero al cuatro, con una densidad máxima de $2.23 \times 10^7 \pm 7$ protozoarios ciliados de vida libre/L en el cuarto día. En contraste con Marín et al. (2017), cuyas densidades reportadas para protozoarios ciliados fue de 1.98×10^5 , nuestros valores son altos. Para el medio BE el crecimiento fue nulo, no presentó ningún cambio favorable en todo el proceso, aun cuando se incubó y realimentó en las mismas condiciones que el medio Trigo.



CONCLUSIONES

La metodología empleada fue aplicada correctamente y se obtuvo resultados favorables en medio trigo, ya que el crecimiento que hubo durante los 14 días fue muy favorable para determinar su curva de crecimiento, puesto que la identificación y cuantificación fue extraordinaria, teniendo en cuenta la importancia de las condiciones controladas como lo fue, PH, temperatura y su agitación, desafortunadamente en el medio BE, al menos en la metodología que se utilizó y las condiciones controladas a nivel laboratorio que solicitaba, no brindó resultados esperados para el crecimiento y aislamiento de los protozoos de vida libre

SE AGRADECE LA COLABORACIÓN Y PARTICIPACIÓN DE GRECIA SOLANO SALOME. Pues sin ella no se habría logrado este hermoso trabajo

BIBLIOGRAFÍA

1. A Grupo Acura. (2022). Lodos activados: qué son y en qué consiste este proceso. Grupo Acura. Consultado el 12 de septiembre de 2023 de <http://grupoacura.com/es/blog/lodos-activados/>
2. Aladro. M. (2007). Diversidad de los protozoos ciliados. Diversidad biológica e inventarios, 8, 61-67
3. Aladro. M y Murillo. M (2007). First description of the lorica of Metacystis truncata and its occurrence on Thalassia testudinum. Journal Of Eukaryotic Microbiology, 46(3): 311-317.
4. Aladro. M y Olvera. M. (2007). Ciliados y otros protozoos. Pp. 97-122,
5. Álvarez, A. R. (2006). Los protozoos: características generales y su rol como agentes patógenos. Cátedra de Patología General y Anatomía Patológica Facultad de Ciencias Veterinarias, 8(1), 62-71.
6. Cairns. J. y Ruthven. J. A. (1972). Prueba de la distribución cosmopolita de los protozoos de agua dulce. Hydrobiologia, 39, 405–427. <https://doi.org/10.1007/BF00046653>

7. Mendez. L., Miyashiro. V., Rojas. R., Contrado. M. y Carrasco. N. (2004). Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala de laboratorio. Revista del Instituto de investigación de la facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas, 7(14), 74-83.
8. Nagoba, B. S. y Pichare, A. (2020). Medical Microbiology and Parasitology. Edition-Ebook. Elsevier Health Sciences, 4, 1230-1250.

EL CRECIMIENTO INICIAL DE CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM SPP.*) ES INFLUENCIADO POR VANADIO

Víctor Hugo Carbajal-Vázquez¹, Fernando C. Gómez Merino¹, Libia I. Trejo-Téllez¹, María de Luz Buendía-Valverde¹, Gabriel Alcántar-González¹, Juan Valente Hidalgo-Contreras²

¹Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo.

²Colegio de Posgraduados, Campus Córdoba.
dccarbajal.vh@gmail.com

RESUMEN

El vanadio (V) es el quinto metal de transición más abundante en la corteza terrestre, con concentración promedio de 110 mg kg⁻¹. Las formas biodisponibles del V para las plantas son dependientes del material parental y de las emisiones de algunas industrias. México es el octavo productor de caña de azúcar a nivel mundial, aunque sus rendimientos se han reducido en los últimos años debido a diferentes factores, entre ellos el cambio climático global. Una de las estrategias que ha mostrado potencial para contrarrestar los efectos negativos del cambio climático es el uso de bioestimulantes inorgánicos como el V. En este estudio se evaluaron los genotipos de caña de azúcar Mex 69-290, Mex 09-341 y CP 72-2086 bajo invernadero, en respuesta a la aplicación de 0, 15 y 30 µM V, en parámetros de crecimiento inicial. Se colocaron yemas de caña de azúcar en imbibición por 18 h en cada tratamiento, y posteriormente se sembraron en contenedores de plástico (13 × 14 × 18.5 cm), con una mezcla de turba y tezontle (1:1, v:v). Se aplicaron 100 mL de cada tratamiento al sustrato a los 10, 20 y 30 d después de la siembra (dds). A los 20 y 25 d después de la aplicación de tratamientos en maceta, se registraron las variables diámetro de tallo (DT), altura de planta (AP) y número de hojas por planta (NH). El análisis de datos se realizó con estadística descriptiva. Los resultados muestran que a los 30 dds el V aumenta el DT, la AP y el NH en Mex 69-290; en tanto que, reduce el DT y la AP en CP 72-2086, con respecto a su testigo en ambos casos. Por otro lado, a los 35 dds, el V incrementó el DT, la AP y el NH en Mex 69-290; mientras que, redujo la AP en Mex 09-341, además del DT y la AP en CP 72-2086, en todos los casos con respecto a su testigo. Se concluye que las dosis de V evaluadas en este estudio tienen efectos diferenciales entre genotipos en parámetros de crecimiento inicial de plántulas de caña de azúcar.

INTRODUCCIÓN

El vanadio (V) es un elemento ampliamente distribuido en la corteza terrestre con una concentración de 110 mg kg⁻¹. Se puede encontrar en 65 tipos de minerales; en su forma pura es un metal blando, dúctil y de color blanco brillante; además del suelo, se encuentra de forma natural en el agua y aire. El V concentrado en la atmósfera proviene de polvo continental, aerosoles marinos y emisiones volcánicas. Sin embargo, la biodisponibilidad de V para las plantas depende del material parental y de emisiones industriales (ATSDR, 2012; Akabayov y Akabayov, 2014).

Por otro lado, el cultivo de caña de azúcar en México, así como para 129 países más, es considerado de alta importancia económica; se produce en 15 entidades federativas del país en una superficie aproximada de 800 mil ha, las cuales (Gómez-Merino *et al.*, 2021), de acuerdo al último reporte de la CONADESUCA correspondiente al mes de mayo 2024, la producción nacional de caña de azúcar fue de 4,583,819 Mg (CONADESUCA, 2024).

El destino de mayor importancia de las exportaciones en materia de productos de caña de azúcar es Estados Unidos, seguido de Marruecos y Canadá; en un lapso de cinco años (2018-2022), México produjo cerca de 5.9 millones de Mg de azúcar, siendo Veracruz primer lugar en producción con 37.7% de participación, y los municipios con mayor volumen de producción fueron Pánuco, Tres Valles y Tierra Blanca con una participación de 6.5, 6.5 y 6.4% de la producción total del estado, respectivamente (SADER, 2023).

Con base en los datos detallados con anterioridad, México está considerado como el octavo productor de caña de azúcar a nivel mundial; sin embargo, debido factores como el cambio climático

global sus rendimientos se han reducido en los últimos años (Zhao y Li, 2015). Una de las estrategias que ha mostrado potencial para contrarrestar los efectos negativos del cambio climático es el uso de bioestimulantes inorgánicos como el V (Aihemait *et al.*, 2020), ya que se ha documentado que su aplicación a plántulas de chile afecta positivamente el coeficiente de velocidad de germinación y la longitud de vástago (Buendía-Valverde *et al.*, 2018), además, mejora el contenido de clorofilas y la asimilación fotosintética (García-Jiménez *et al.*, 2018; Nawaz *et al.*, 2018). Con base en lo anterior, este estudio evaluó la aplicación de 0, 15 y 30 μM V en los genotipos de caña de azúcar Mex 69-290, COLPOSCCMEX 09-341 y CP 72-2086 bajo condiciones de invernadero, en respuesta a parámetros de crecimiento.

PARTE EXPERIMENTAL

En un invernadero tipo túnel con cobertura plástica y malla antiáfido en las laterales (**Figura 1a**), se realizó el experimento con yemas obtenidas de varas de caña de azúcar, las cuales se cortaron en longitudes entre 7 y 8 cm y se colocaron en imbibición (**Figuras 1b y 1c**) por 18 h en los tratamientos de V (0, 15 y 30 μM V L^{-1} , a partir de metavanadato de amonio, NH_4VO_3). Posteriormente se sembraron en contenedores de plástico ($13 \times 14 \times 18.5$ cm), con una mezcla de turba y tezontle (1:1, v:v) (**Figura 1d**).

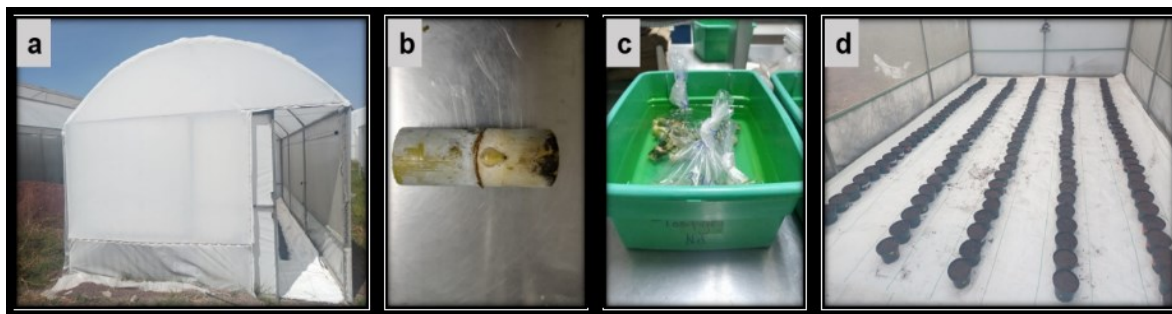


Figura 17. a. Invernadero tipo túnel; b. Yema de caña de azúcar; c. Yemas en proceso de imbibición y d. Yemas sembradas en contenedores plásticos.

Se aplicaron 100 mL de cada tratamiento al sustrato a los 10, 20 y 30 d después de la siembra (dds). La humedad del sustrato se mantuvo con la aplicación de 200 mL de agua potable al día durante el proceso de germinación (100 mL por la mañana y 100 mL por la tarde), en la fase de crecimiento inicial, se incrementó el volumen a 300 mL (distribuidos en 100 mL por la mañana, medio día y tarde, respectivamente).

A los 30 y 35 d después de la aplicación de los tratamientos, se registraron las variables de crecimiento inicial, como se describe a continuación: el diámetro de tallo (DT) se determinó con un vernier digital (Truper®) a 5 cm del sustrato, la altura de planta (AP) se midió con un flexómetro (Wiseup®) desde el sustrato hasta la punta de la hoja bandera y el número de hojas por planta (NH) se contabilizó por medio de la revisión visual de la plántula. El análisis de datos se realizó con estadística descriptiva.

RESULTADOS

Los resultados muestran que a los 30 dds, las dos dosis de V (15 y 30 μM) incrementaron en promedio el DT, la AP y el NH en Mex 69-290 en 22.4, 41.4 y 24%, respectivamente. De la misma manera, la dosis 30 μM V aumentó en 9.2 y 5.9% el DT y AP en COLPOSCCMEX 09-341; en tanto que, ambas dosis de V (15 y 30 μM) redujeron el DT y la AP en CP 72-2086 en promedio en 20.5 y 16%, con respecto a su testigo (**Cuadro 1**). No se encontró literatura científica con V para contrastar los resultados obtenidos con los genotipos Mex 69-290 y COLPOSCCMEX 09-341. Mientras que los resultados obtenidos en el genotipo CP 72-2086 en la AP coinciden con los de Senties-Herrera *et al.* (2017), quienes indican decrementos de la altura de planta, después de 30 d de la primera aplicación

foliar de 10 μM V, además, no encontraron efectos en el DT al aplicar 10 y 20 μM V L^{-1} a los 30 d después de la primera aplicación foliar.

Cuadro 1. Parámetros de crecimiento en genotipos de caña de azúcar después de 30 d de la aplicación de tratamientos con vanadio.

Genotipo	V (μM)	DT (mm)	AP (cm)	NH
Mex 69-290	0	4.86 $\pm$ 0.93	25.0 $\pm$ 7.24	2.5 $\pm$ 0.86
	15	5.86 $\pm$ 0.40	33.8 $\pm$ 6.12	3.0 $\pm$ 0.01
	30	6.04 $\pm$ 0.31	36.9 $\pm$ 2.37	3.2 $\pm$ 0.20
COLPOSCCMEX 09-341	0	6.50 $\pm$ 0.39	39.2 $\pm$ 1.53	3.4 $\pm$ 0.24
	15	6.61 $\pm$ 0.80	36.3 $\pm$ 5.69	3.3 $\pm$ 0.33
	30	7.10 $\pm$ 0.24	41.5 $\pm$ 3.01	3.3 $\pm$ 0.33
CP 72-2086	0	6.60 $\pm$ 0.51	34.9 $\pm$ 4.88	3.2 $\pm$ 0.20
	15	4.37 $\pm$ 1.13	26.6 $\pm$ 6.95	3.0 $\pm$ 0.77
	30	6.13 $\pm$ 0.38	32.0 $\pm$ 2.71	3.6 $\pm$ 0.24

DT: Diámetro de tallo. AP: Altura de planta. NH: Número de hojas. Medias $\pm$ DE.

Por otro lado, a los 35 dds, en el genotipo Mex 69-290 el tratamiento con 15 y 30 μM V incrementó 18.3 y 42.1% el DT; 37.5 y 42.5% la AP; y 10 y 26.7% el NH, en todos los casos con respecto al testigo (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Parámetros de crecimiento en genotipos de caña de azúcar después de 35 d de la aplicación de tratamientos con vanadio.

Genotipo	V (μM)	DT (mm)	AP (cm)	NH
Mex 69-290	0	5.04 $\pm$ 0.93	31.5 $\pm$ 9.27	3.0 $\pm$ 9.27
	15	5.96 $\pm$ 0.23	43.3 $\pm$ 5.92	3.3 $\pm$ 5.92
	30	7.16 $\pm$ 0.36	44.9 $\pm$ 1.98	3.8 $\pm$ 1.98
COLPOSCCMEX 09-341	0	7.14 $\pm$ 0.26	48.2 $\pm$ 1.87	3.8 $\pm$ 1.87
	15	7.39 $\pm$ 0.91	35.1 $\pm$ 5.50	4.0 $\pm$ 5.58
	30	7.51 $\pm$ 0.44	50.1 $\pm$ 3.49	4.4 $\pm$ 3.49
CP 72-2086	0	6.61 $\pm$ 0.65	41.7 $\pm$ 5.35	4.0 $\pm$ 5.35
	15	4.66 $\pm$ 1.17	32.9 $\pm$ 8.64	3.5 $\pm$ 8.64
	30	6.90 $\pm$ 0.34	39.4 $\pm$ 2.69	4.0 $\pm$ 2.69

DT: Diámetro de tallo. AP: Altura de planta. NH: Número de hojas. Medias $\pm$ DE.

En el genotipo COLPOSCCMEX 09-341 se observó 35 dds la misma tendencia que en Mex 60-290 en las variables AP y NH con incrementos medios con respecto al testigo de 4.3 y 5.3%, respectivamente (**Cuadro 2**). En este genotipo, la dosis 15 μM V redujo el DT y el AP con respecto al testigo.

En el genotipo CP 72-2086, solo la dosis 30 μM V tuvo efectos positivos en el DT al incrementarlo en 4.4% con respecto al testigo. Es notable que en este genotipo la dosis 15 μM V redujo las tres variables evaluadas (**Cuadro 2**). Estos resultados son coincidentes con los de Senties-Herrera *et al.* (2017) quienes reportan que la aspersión al follaje de 10 y 20 μM V L^{-1} reducen el DT y AP entre los 31 y 90 días después de la primera aplicación foliar.

CONCLUSIONES

Se concluye que las dosis de 15 y 30 μM V a partir de NH_4VO_3 tienen efectos diferenciales entre genotipos de caña de azúcar. El V estimuló el crecimiento inicial de plántulas de caña de azúcar del genotipo Mex 69-290. El genotipo CP 72-2086 resultó ser más susceptible a los tratamientos de V.

BIBLIOGRAFÍA

- A. Aihemaiti, Y. Gao, Y. Meng, X. Chen, J. Liu, H. Xiang, Y. Xu, & J. Jiang, "Review of plant-vanadium physiological interactions, bioaccumulation, and bioremediation of vanadium-contaminated sites", *Science of the Total Environment*, Vol. 712, 135637, 2020.
- A. García-Jiménez, L. I. Trejo-Téllez, D. Guillen-Sánchez & F. C. Gómez-Merino, "Vanadium stimulates pepper plant growth and flowering, increases concentrations of amino acids, sugar and chlorophylls, and modifies nutrient concentrations", *PLoS ONE*, Vol. 13, e0201908, 2018.
- ATSDR (Agency for Toxic Substance and Disease Registry), "Toxicological profile for vanadium", U.S. Department of Health and Human Service, 2012. Consultado en línea el 04 de junio de 2024; en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK592350/#ch1.s6>
- CONADESUCA, "30° reporte de avance de producción de la zafra 2023/2024", *Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar*, 2024. Consultado en línea el 04 de junio de 2024; en <https://www.gob.mx/conadesuca/articulos/30-reporte-de-avance-de-produccion-de-la-zafra-2023-24?idiom=es>
- D. Zhao & Y. R. Li, "Climate change and sugarcane production: potential impact and mitigation strategies", *International Journal of Agronomy*, Vol. 2015, 547386, 2015.
- F. C. Gómez-Merino, L. I. Trejo-Téllez & N. Aguilar-Rivera. "Agregación de valor y diversificación de la agroindustria de la caña de Azúcar en México: Opciones y desafíos", *Revista de la Asociación de Técnicos Azucareros de México*, Vol. 34, 2, 2021, pp. 6-10.
- H. E. Sentfies-Herrera, L. I. Trejo-Téllez, J. Cadena-Iñiguez, V. H. Volke-Haller, R. Loyo-Joachin, P. Sánchez-García & F. C. Gómez-Merino, "La aplicación foliar de yodo y vanadio afecta el crecimiento y los grados brix en caña de azúcar en la etapa de maduración", *Revista de la Asociación de Técnicos Azucareros de México*, Vol. 30, 3, 2017, pp. 25-27.
- M. A. Nawaz, C. F. Chen, F. Shireen, Z. Zheng, Y. Jiao, H. Sohail, M. Afzal, M. Imtiaz, M. A. Ali, Y. Huang & Z. Bie, "Improving vanadium stress tolerance of watermelon by grafting onto bottle gourd and pumpkin rootstock", *Plant Growth Regulation*, Vol. 85, 2018, pp. 41–56.
- M. L. Buendía-Valverde, L. I. Trejo-Téllez, T. Corona-Torres & V. H. Aguilar-Rincón, "Cadmio, talio y vanadio afectan diferencialmente la germinación y crecimiento inicial de tres variedades de chile", *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, Vol. 34, 2018, pp. 737-749.
- S. R. Akabayov & B. Akabayov, "Vanadate in structural biology", *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 420, 2014, pp. 16-23.
- SADER, "Mantiene México superávit comercial de azúcar de caña". Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2023. Consultado en línea el 04 de junio de 2024; de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/mantiene-mexico-superavit-comercial-de-azucar-de-cana>

CLAVISPORA LUSITANEA COMO ALTERNATIVA SOSTENIBLE EN LA REDUCCIÓN DE AGROQUÍMICOS Y EL ESTÍMULO COMO PROMOTORA DE CRECIMIENTO VEGETAL

Zoe Resendiz-Venado¹, Lily X. Zelaya-Molina², Virginia Villa-Cruz¹, Juan Ramos-Garza³, Esmeralda Plascencia-Ulloa², Edgardo Bautista-Ramírez⁴, Ismael F. Chávez-Díaz², Rita J. Patakfalvi¹.

¹Centro Universitario de Los Lagos-UdG, Av. Enrique Díaz de León 1144, Col. Paseos de la Montaña, Lagos de Moreno, C.P. 47460, Jalisco. ²Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP, Blvd. de la Biodiversidad No. 400, Tepatitlán de Morelos, C.P. 47600, Jalisco, México. ³Universidad del Valle de México-Campus Coyoacán, Calz. de Tlalpan 3016/3058, Ex-Hacienda Coapa, Coyoacán, 04980, Ciudad de México. ⁴Campo Experimental Centro Altos de Jalisco-CIRPAC-INIFAP, Blvd. de la Biodiversidad No. 2470, Tepatitlán de Morelos C.P. 47600, Jalisco. zoresendizvenado@gmail.com

RESUMEN

Las levaduras son hongos microscópicos predominantemente unicelulares en su ciclo de vida, tienen un elevado potencial para ser empleadas en el ámbito agrícola y presentan actividades que favorecen el crecimiento de los cultivos ya que inciden directamente en el desarrollo y rendimiento, al mismo tiempo que contribuyen a la recuperación de suelos degradados. Su aplicación se ha ampliado con el fin de respaldar el progreso hacia una agricultura sostenible. Los agricultores han llevado a cabo prácticas de transformación de suelos forestales a agrícolas, a menudo acompañadas de un manejo inadecuado de los agroquímicos, lo que tiene un impacto directo en los recursos naturales. Es por esto que el objetivo de este estudio fue evaluar a *Clavispora lusitanea* Y35 en la reducción de agroquímicos y el estímulo del crecimiento vegetal. La evaluación se realizó a través de una prueba de germinación estándar, se evaluó mediante una semilla de maíz híbrido, donde se analizaron parámetros de germinación, longitud de planta (PL), y raíz (RL), número de raíces (NR); así como peso fresco y seco de la parte aérea (PPF y PPS) y raíz (PFR y PRS) de las plántulas. También se realizó una evaluación en campo, donde se llevó a cabo un tratamiento para evaluar a *Clavispora lusitanea* Y35 como promotora de crecimiento vegetal, utilizando semilla de maíz híbrido 7573, evaluando parámetros como: longitud de la planta, número de mazorcas y número de plantas entre surcos. Basándose en la información recolectada, se realizó un análisis de componentes principales y un análisis de varianza. Los resultados de las pruebas de germinación estándar revelaron que la cepa *Clavispora lusitanea* Y35 obtuvo valores porcentuales más altos en los parámetros de longitud de plántula (61.2%), longitud de raíz (64.13%) y peso fresco de raíz (46.09%) en comparación del control. Sin embargo, en la evaluación de campo, se observó un incremento del 52.04% en el número de mazorcas para la cepa *Clavispora lusitanea* en comparación con el control, así como un mejoramiento del control del uso de agroquímicos ya que beneficia el establecimiento y rendimiento de los cultivos de maíz híbrido, es por eso que la cepa *Clavispora lusitanea* es una buena candidata como promotora de crecimiento vegetal ya que producen metabolitos como fitohormonas y aminoácidos que permiten que las plantas tengan un mejor desarrollo y así implementar en un futuro un bioinoculante como promoción de crecimiento vegetal para poder disminuir el uso de agroquímicos.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del maíz es esencial tanto a nivel mundial como nacional, debido a su importancia en la alimentación de la población. En México, en 2002 se sembraron aproximadamente 6.9 millones de hectáreas de maíz, y se produjeron 26 millones de toneladas (SIAP, 2023). El 70% de esta producción depende de materiales híbridos desarrollados por empresas comerciales, o centros de investigación. El híbrido A-7573 es una variedad desarrollada por empresas líderes en el sector agrícola que combina características genéticas específicas para lograr un alto rendimiento. Suele estar diseñado para adaptarse a diferentes zonas climáticas y suelos, lo que lo hace atractivo para agricultores en diversas regiones. Además de su alta productividad, el A-7573 a menudo se destaca por su resistencia a enfermedades comunes del maíz y por su capacidad para producir mazorcas de alta calidad con granos uniformes y bien formados. Los agricultores suelen elegir este híbrido por su

capacidad para ofrecer cosechas consistentes y rentables año tras año (Valdivia-Bernal et al., 2007). Por su parte, el híbrido H-391 se considera una opción tecnológica para que los productores de maíz ubicados en regiones subtropicales de México aumenten la productividad y rentabilidad de su sistema de producción. Sin embargo, en la producción de maíz como de otros cultivos, se buscan alternativas que reduzcan el empleo de agroquímicos, como el uso de organismos promotores de crecimiento vegetal.

La interacción entre las plantas y los microorganismos promotores de crecimiento vegetal juega un papel importante en el crecimiento y desarrollo de los cultivos, ya que estos microorganismos pueden influir positivamente en el rendimiento de las plantas a través de diversos mecanismos (Nannipieri et al., 2003). Bacterias, hongos y levaduras, pueden estimular el crecimiento de las plantas mediante la producción de metabolitos benéficos y el aumento en la disponibilidad de nutrientes en el suelo (Moreno-Reséndez et al., 2018). Estos microorganismos pueden afectar positivamente la germinación y el vigor de las semillas, lo que puede tener un impacto significativo en la productividad agrícola (Gonçalves-Avelar et al., 2011).

En este contexto, se ha identificado a la levadura *Clavispora lusitanae* Y35 como una cepa con potencial para promover el crecimiento vegetal, ya que ha demostrado mejorar el crecimiento de plántulas de maíz, frijol y calabaza (Ramos-Garza et al., 2023; Calvillo-Aguilar et al., 2023). Su capacidad para aumentar el largo de plúmula, peso fresco de plúmula y peso fresco de raíz de plántulas sugiere un posible uso en el incremento en la germinación y producción de maíz. Es por esto que el objetivo de este estudio fue evaluar a *Clavispora lusitanae* Y35 en la reducción de agroquímicos y el estímulo del crecimiento vegetal.

TEORÍA

Aunque los fertilizantes químicos han aumentado la productividad agrícola, la falta de comprensión sobre su aplicación y la asesoría técnica deficiente han generado la contaminación de los suelos agrícolas, los mantos freáticos y ríos, así como riesgos a la salud humana y ambiental. A nivel mundial, el uso de fertilizantes ha aumentado, con una demanda anual que supera los 200 millones de toneladas. En México, se utilizan en promedio 114 kg de fertilizantes por hectárea, lo que subraya su importancia en la producción agrícola. Sin embargo, el aumento de los costos y la volatilidad de los precios de los fertilizantes, y la contaminación generada, han llevado a la adopción de nuevas estrategias de fertilización (Kumar et al., 2015).

La agricultura tradicional ha buscado aumentar la producción agrícola mediante el manejo del agua, los nutrientes, el control de malezas y organismos fitopatógenos. Sin embargo, prácticas recientes apuntan al empleo de estrategias alternativas que permitan el manejo y conservación de los recursos naturales, con la disminución al mínimo de agroquímicos y técnicas agrícolas que afecten la calidad del suelo, como es el uso de microorganismos como bioinoculantes ya que es una de las estrategias crecientes a nivel mundial para el desarrollo de una producción agrícola sostenible y eficiente que garantice la seguridad alimentaria mundial, mitigue el impacto del cambio climático, el deterioro de los recursos naturales y las plagas de un comercio globalizado (Kumar et al., 2015; Gouda et al., 2018; Srivastava).

Actualmente, los tratamientos al momento de siembra ya no solo se centran en proteger a las plantas contra plagas y enfermedades, ahora buscan mejorar aspectos fisiológicos que aceleren y homogenicen su germinación e incrementen su productividad (Gonçalves-Avelar et al., 2011). Debido a la importancia de la germinación en la producción agrícola, algunos estudios se han enfocado en la búsqueda de cepas microbianas que incrementen la germinación de plantas de maíz, trigo y arroz (Bákonfi et al., 2013; Noumavo et al., 2013). Por otra parte, los tratamientos biológicos consideran el uso de una o varias cepas de microorganismos promotores de crecimiento vegetal, que mediante la producción de diversos metabolitos incrementan el desarrollo y rendimiento de las plantas y/o contribuyen al control de plagas y enfermedades de los cultivos (Lencinas et al., 2020).

PARTE EXPERIMENTAL

- Bioensayos con semillas de maíz.

La prueba de germinación se realizó siguiendo el método modificado de la ISTA (Calvillo-Aguilar et al., 2022), utilizando papel para germinación y semillas de maíz del híbrido H-391 (INIFAP). El

ensayo se llevó a cabo con 25 semillas, con 4 repeticiones. Las semillas se colocaron sobre el papel, se envolvieron en forma de taco, inoculando los tacos con 15 ml de una suspensión de la levadura *C. lusitanae* Y35 al 0.5 del nefelómetro de McFarland, y se incubaron por 12 días en una cámara de germinación a 25 °C y en un ciclo de 14 horas de luz/10 horas de oscuridad, con riego cada dos días con 5 ml de agua destilada estéril. Se estableció un ensayo control sin inocular con 4 repeticiones. Para evaluar el efecto de las cepas durante la germinación de las semillas de maíz, a los 12 días de establecida la evaluación, se cuantificó el número de plántulas normales, anormales y semillas no germinadas. Se consideraron como plántulas sanas aquellas que no presenten daños en la raíz ni en el tallo, mientras que se consideraron anormales aquellas que presenten defectos como la ausencia de raíz primaria, raíces secundarias débiles o daños en el tallo y la raíz. Las semillas no germinadas fueron aquellas que no germinaron. Además, se midió la longitud de la plúmula y de la raíz, se contó el número de raíces primarias y secundarias de cada plántula. Se obtuvo el peso fresco y seco de la plúmula y raíz de tres plántulas.

- Evaluación en campo

La evaluación se estableció en Tepatitlán de Morelos, Jalisco, en un terreno de 1602.35 m², durante la temporada otoño-invierno 2023. Se utilizó maquinaria para desmontar, voltear y rastrear el suelo. La siembra fue manual, con 80 cm entre surcos y 20 cm entre plantas. Se utilizó semilla del híbrido A-7573 (Asgrow). Se aplicó una mezcla de urea (11.23kg) y DAP (1.58kg) al momento de la siembra. El riego fue de temporal. La cepa *C. lusitanae* Y35 se aplicó los días 1, 15 y 30 días después de la siembra, a una concentración de 1x10⁸ UFC. La cosecha de elotes se realizó de forma manual, los días 5,6,7 y 8 de Octubre y los parámetros a evaluar fueron: longitud de la planta, número de mazorcas por metro y número de plantas entre surcos para determinar la germinación, con los datos recolectados se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y el rendimiento por planta.

RESULTADOS

Con los datos recolectados de los parámetros evaluados para el bioensayo de las semillas de maíz, la cepa *Clavispora lusitana* Y35 (Figuras 1 y 2) obtuvo valores porcentuales más altos en los parámetros de longitud de plántula (61.2%), longitud de raíz (64.13%) y peso fresco de raíz (49.09%) en comparación del control.



Figura 1. Plántulas del híbrido del H-391 (control).



Figura 2 Plántulas del híbrido de maíz H-391 inoculadas con *Clavispora lusitanea* Y35.

En la evaluación en campo hubo un incremento del 52.04% en el número de mazorcas para la cepa *Clavispora lusitanea* Y35 en comparación con el control. El rendimiento por planta fue de 3.4 kg en el control de y 5.5 kg por planta en las inoculadas con *Clavispora lusitanea* Y35. Obteniendo 2.1 kg/planta con la inoculación con *Clavispora lusitanea* Y35, en comparación del control.

CONCLUSIONES

Basándonos en los rendimientos observados, podemos inferir que la aplicación de *Clavispora lusitanea* Y35 como promotor de crecimiento vegetal ha tenido un impacto positivo en el rendimiento del maíz. La diferencia en el rendimiento con la aplicación de *Clavispora lusitanea* Y35 sugiere un aumento significativo en la producción de maíz. Esto indica que *Clavispora lusitanea* puede estar contribuyendo al crecimiento y desarrollo de las plantas de maíz, posiblemente mejorando la absorción de nutrientes, la resistencia a enfermedades o el desarrollo de raíces. Es por ello que *Clavispora lusitanea* como promotora de crecimiento vegetal podría ser una estrategia efectiva para mejorar el rendimiento y la productividad el cultivo de maíz. Sin embargo, es importante continuar con estudios adicionales para confirmar estos resultados en la promoción del crecimiento vegetal por parte de *Clavispora lusitanea* Y35 e implementar a futuro un bioinoculante que permita reducir el uso de agroquímicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agricultura técnica en México, 33(2), 135-143.
2. Bakonyi N., Bott S., Gajdos E., Szabó A., Jakab A., Tóth B., Makleit P. Veres S. (2013). Using biofertilizer to improve seed germination and early development of maize. Pol. J. Environ. Stud. 22(6): 1595-1599.
3. Calvillo-Aguilar F.F., Cruz-Cárdenas C.I., Chávez-Díaz I.F., Sandoval-Cancino G., Ruiz-Ramírez S., Bautista-Ramírez E., Ramos-Garza J., Hernández-Rodríguez C.H., Zelaya-Molina L.X. (2023). Germination test for the evaluation of plant-growth promoting microorganisms. Journal of Microbiological Methods. 207:106708.
4. Diario Oficial de la Federación (DOF). (2007). Ley federal de producción, certificación y comercio de semillas. Poder Ejecutivo de la Federación. DOF, México, DF, 1-17.
5. Gouda S., Kerry R.G., Das G., Paramithiotis S., Shin H.S., Patra J.K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. Microbiol. Res. 206: 131-140.
6. Kumar A., Bahadur I., Maurya B.R., Raghuwanshi R., Meena V.S., Singh D.K., Dixit J. (2015). Does a plant growth-promoting rhizobacteria enhance agricultural sustainability. J. Pure Appl. Microbiol. 9:715-724.

7. Lencinas M.G., Pesce V.M., Flores C.B., Vazquez F, Nally M.C. (2020). Evaluación del efecto de las levaduras vitivinícolas biofungicidas sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechugas (*Lactuca sativa* L.) in vitro. Análisis de fitotoxicidad. *Terra Latinoam.* 38(3): 715-724.
8. Moreno-Reséndez A., Carda-Mendoza V., Reyes-Carrillo J.L., Vásquez-Arroyo J., Cano-Ríos P. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 20:68-83.
9. Nannipieri P., Ascher M., Ceccherini T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* 54:655-670.
10. Noumavo P.A., Kochoni E., Didagbé Y O., Adjanohoun A., Allagbé M., Sikirou R., Gachomo E.W., Kotchoni S.O., Baba-Moussa L. (2013). Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *American Journal of Plant Sciences.* 4(5): 1013-1021.
11. Ramos-Garza J., Aguirre-Noyola J.L., Bustamante-Brito R., Zelaya-Molina L.X., Maldonado-Hernández J., Morales-Estrada A.I., Resendiz-Venado Z., Palacios-Olvera J., Angeles-Gallegos T., Terreros-Moysen T., Cortés-Carvajal M. Martínez-Romero E. (2023). Mycobiota of Mexican maize landraces with auxin-producing yeasts that improve plant growth and root development. *Plants.* 12(6): 1328.
12. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2023). Anuario estadístico de la producción agrícola. SIAP. Obtenido de: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
13. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2018). ¿Qué es y en qué consiste el análisis de pureza física de las semillas? Obtenido de: <https://www.gob.mx/snics/articulos/que-es-y-en-que-consiste-el-analisis-depureza-fisica-de-las-semillas?idiom=es>
14. Sierra-Macías M., Rodríguez-Montalvo F.A., Palafox-Caballero A., Espinosa-Calderón A., Andrés-Meza P., Gómez-Montiel N.O., Valdivia-Bernal R. (2016). Productividad de semilla y adopción del híbrido de maíz H-520, en el trópico de México. *Agricultura, sociedad y desarrollo.* 13(1): 19-32.
15. Valdivia-Bernal R., Caro Velarde F.J., Ortiz-Catón M., Betancourt-Vallejo A., Ortega-Corona A., Vidal-Martínez V.A., Espinosa-Calderón A. (2007). Desarrollo participativo de híbridos sintéticos de maíz y producción de semilla por agricultores.

EL CINE COMO RECURSO DIDÁCTICO EN EL APRENDIZAJE DE LA BIOÉTICA EN INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Blanca Estela Gómez Luna, Laura Mejía Teniente, Juan Carlos Ramírez Granados, Adán Topiltzin Morales Vargas

Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, Departamento de Ingeniería Agroindustrial.
be.gomez@ugto.mx

RESUMEN

Apreciar al cine como herramienta de trabajo académico permite al profesor desarrollar su creatividad para transmitir y ampliar información, conocimientos, habilidades, valores y actitudes. Permite al docente experimentar estrategias en el proceso enseñanza-aprendizaje y probar nuevas formas de transmitir el conocimiento. Este trabajo tiene como objetivo demostrar que el uso del cine y documentales son una herramienta didáctica eficaz para la docencia universitaria en unidades de aprendizaje como la Bioética en el programa educativo de Ingeniería en Biotecnología. El cine en el aula o fuera del aula es un elemento sustancial para el mejor entendimiento de conceptos y reflexión desde el punto de la Bioética de los avances de la Ciencia y de la Biotecnología. Se aprovecha el potencial del cine ya que posee un gran atractivo y poder difusor para capta a los alumnos para tratar temas relacionados con valores. Se les indicó a los estudiantes recomendaciones de películas y documentales para ilustrar porque los avances de la ciencia en especial la biotecnología general polémica y reflexión como es con temas de clonación, investigación con células madre, transgénicos, epidemias, negligencia industrial, ecocidio, experimentación humana y con animales. Los estudiantes en un ensayo deben plasmar su análisis crítico de los temas, mensajes e ideas presentadas en las películas o documentales, incluyendo la razón de presentar un debate bioético. Los estudiantes encontraron una forma más clara de entender los alcances de la bioética y porque se invita a la reflexión sobre cómo se construye el conocimiento, cómo se aplica y las consecuencias. Como conclusión, podemos decir que lo positivo del cine es que nos muestra imagen, movimiento y contexto histórico en su conjunto. Este recurso audiovisual es incrementa la motivación de los estudiantes y complementa los conceptos vistos en las clases y a la formación integral.

INTRODUCCIÓN

Los medios de comunicación en general, y el cine en particular, se erigen como herramientas educativas eficaces de niños, adolescentes, jóvenes y adultos que, utilizadas de forma constructiva, ayudan a los docentes a transmitir conceptos abstractos propios del ámbito universitario, fomentando así un sistema de comunicación dialógico profesor-alumno (Pulido, 2016).

El desarrollo de las nuevas tecnologías audiovisuales ha propiciado que en los últimos años el cine se haya ido incorporando a la docencia como un instrumento pedagógico eficaz para la formación integral de los alumnos, o como complemento para el desarrollo del programa de una asignatura, y ha ido desbancando las clásicas clases magistrales, tradicionalmente poco interactivas, escasamente atractivas para transmitir conceptos complejos a los alumnos y, en ocasiones, fundamentadas en la pura memorización de textos más o menos didácticos (Pulido, 2016).

La enseñanza-aprendizaje implica una labor educativa en permanente proceso de aprendizaje, que el profesor en su gestión adquiera más información como consecuencia de su experiencia en la inmersión en la actividad de la enseñanza e investigación, y cuente con material didáctico audiovisual para afrontar la tarea en la transmisión de conocimientos. Las producciones digitales permiten a la docencia aplicar nuevas estrategias en los campos de la investigación, así como promocionar el uso de las nuevas tecnologías; el cine, gracias a su fácil acceso es una herramienta básica en el proceso educativo (Merdader, 2012).

En programas educativos de ingeniería, los estudiantes pueden llegar a considerar a la UDA de Bioética y seguridad como relleno en su plan de estudios, expresan que es mucho material que leer, que es aburrido, que no hay un sentido de existir de la UDA. El cine presenta la posibilidad de ver situaciones ficticias o basadas en hechos reales de temas sobre mala conducta científica, negligencia industrial, fronteras del avance de la ciencia, experimentación en humanos y animales, bioseguridad, seguridad industrial, conflictos de interés, etc. Se ve toma de decisiones y las consecuencias de esas decisiones. Es más claro porque algunos temas son Tabú como es el caso de transgénicos, generan conflicto y debate, se práctica el pensamiento crítico.

PARTE EXPERIMENTAL

La Unidad de Aprendizaje (UDA) de Bioética y seguridad se imparte en el octavo semestre del programa de Ingeniería en Biotecnología. Se les indicó a los estudiantes recomendaciones de películas y documentales para ilustrar porque los avances de la ciencia en especial la biotecnología general polémica y reflexión como es con temas de clonación, investigación con células madre, transgénicos, epidemias, negligencia industrial, ecocidio, mala conducta científica y experimentación humana y con animales. Los estudiantes en un ensayo deben plasmar su análisis crítico de los temas, mensajes e ideas presentadas en las películas o documentales, incluyendo la razón de presentar un debate bioético.

El listado de películas recomendadas y una breve reseña:

-Frankenstein (1994): Reflexionar sobre lo que significa el ser humano, hacerte cargo de tus acciones y una reflexión de la importancia de la vida.

-Flint (2017): Negligencia industrial y de las autoridades, rendición de cuentas

-Horizonte profundo (2016): Consecuencia de malas decisiones que afectaron a personas y al ecosistema, falta de supervisión, importancia del cumplir con las normas oficiales y protocolos de seguridad.

-Estallido o Epidemia (1995): Hace recordar lo vivido en el tiempo de la pandemia, conocimiento de los niveles de bioseguridad y buenas prácticas de trabajo.

-La inmortal vida de Henrietta Lacks (2017):

Importancia del consentimiento informado y uso de tejidos y células de pacientes para investigación.

-Gorilas en la niebla (1988): Ciencia y género, pasión por la ciencia, protección animal, riesgo que corren los ambientalistas.

-El Rey de los clones: Mala conducta científica, integridad científica, fraude

-Aguas profundas: Negligencia industrial, contaminación y salud pública

-El Dilema (1999): Negligencia industrial, problemas de salud pública, corrupción

-Bhopal (2014): Negligencia industrial, problemas de salud pública.

-Aguas oscuras (2019): Negligencia industrial.

-Serie de El lado oscuro de la ciencia (2013): Se destaca la importancia de considerar las implicaciones éticas y sociales de la investigación científica y la aplicación de nuevas tecnologías



Figura 1. Posters de las películas que se recomendaron para la actividad de cine de debate.

RESULTADOS

Se les asignó la actividad llamada cine de debate a dos grupos de la UDA Bioética y seguridad a un total de 50 estudiantes. En la tabla 1 se muestran algunas reflexiones más sobresalientes y que película les resultó más reflexiva. En expresiones de algunos jóvenes si tienen una perspectiva de pensamiento crítico en diversos temas y entender por qué se genera debate o polémica, cuando se han violentado los derechos humanos, cuando se presenta importantes avances en ciencia pero a costa de los derechos de otras personas.

Tabla 1. Listado de las películas recomendadas y una síntesis de las reflexiones realizadas por los estudiantes en sus ensayos.

Película	Comentario	Gusto
Frankestein	Se aborda la mala conducta científica, consecuencias de una ambición desmedida y búsqueda de un conocimiento sin medir una consecuencia	**
Flint	El papel de funcionarios públicos, negligencia, falta de transparencia contribuyen a incrementar la crisis de salud pública y sufrimiento de los residentes de la ciudad	**
Horizonte profundo	Se destaca el antecedente de derrame de petróleo en el Golfo de México, la toma de decisiones en una situación de desastre y las consecuencias en la vida de los trabajadores	**
Estallido o Epidemia	Se reflejan los desafíos enfrentados por los líderes políticos, profesionales de la salud y la población en la pandemia por COVID, pánico, desinformación, etc.	***
Gorilas en la niebla	Protección de la vida silvestre, lucha contra la caza furtiva, destrucción del hábitat, guerra y conflicto con autoridades locales.	***
El Rey de los clones	Se muestra los avances de ciencia en especial clonación y como es conocimiento de actualidad y controversia por las formas en las que se lleva a cabo y el fin que se persigue más el demostrar que es una realidad más que una resolución de problemas	**
El Dilema	Conflictos de interés, las consecuencias en la toma de decisiones. El gran impacto económico de la industria del tabaco y el negar u ocultar las consecuencias en la salud	**
Bhopal	Negligencia industrial, explotación laboral, consecuencia de la toma de decisiones, intoxicación y muerte de muchas personas a consecuencia	**
Aguas oscuras	Contaminación, problemas de salud pública, negligencia industrial	***

El lado oscuro de la ciencia	Eventos en la historia en los que no se tuvo apego a una buena conducta científica, como en experimentación con humanos y animales, que ahora están establecidos los protocolos internacionales	**

CONCLUSIONES

El uso de materiales didácticos ampliamente variados es una oportunidad para que el estudiante de Ingeniería en Biotecnología vierta su imaginación, ingenio.

El Cine logra atraer su atención y motivar el pensamiento crítico.

Los materiales son un apoyo en la comprensión de temas, conceptos y procesos en las diversas unidades de aprendizaje del programa educativo de Ingeniería en biotecnología.

En las mesas de trabajo sesiones en las que se discutieron las películas los estudiantes expresaron un análisis crítico de cada caso, comprobando la aceptación del cine de debate como una herramienta didáctica efectiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. M. Pulido, "El cine en el aula: una herramienta pedagógica eficaz", Opción. Año 32, N° 8, 2016, pp. 519-538.
2. Y. Mercader, "El cine como espacio de enseñanza, producción e investigación", Reencuentro. N° 63, 2012, pp. 47-52.

ANÁLISIS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN MICELIO DE *HERICIUM ERINACEUS* Y *CORDYCEPS MILITARIS* CULTIVADO EN CONDICIONES CONTROLADAS DE ILUMINACIÓN LED

Laura Anabel Paez-Olivan, Jaime Herrera Gamboa, Alma Yareli Aguilar Barrios, Nalleli Trancoso Reyes, * Carmen Zulema Quiñones-Pérez

Instituto Tecnológico Nacional de México campus Valle del Guadiana, Km. 22.5 Carretera Durango-México, Villa Montemorelos, Durango.

* zulema.qp@vguadiana.tecnm.mx

RESUMEN

Los hongos medicinales han sido reconocidos durante mucho tiempo como una parte importante de la cultura y la civilización humana. Las especies de los géneros *Hericium* y *Cordyceps* son valoradas por sus componentes de importancia medicinal con efecto antiinflamatorio, antitumoral, anti proliferativo, antidiabético y alto contenido de antioxidantes. Algunos estudios demuestran que la luz influye en la producción de compuestos con actividad biológica. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la luz-LED en la producción de compuestos bioactivos de los hongos *Hericium erinaceus* y *Cordyceps militaris* en cultivo líquido. Para ello, se realizó un diseño experimental aleatorio, utilizando 24 matraces Erlenmeyer de 250 mL para cada cepa, con 150 mL de caldo extracto de malta e inoculados con *H. erinaceus* y *C. militaris*, 12 de ellos se dejaron en oscuridad y el resto fue expuesto a luz-LED en agitación continua en un total de 25 días, tomando muestras los días 5, 10, 15, 20 y 25; luego se almacenaron en un ultra-congelador para posteriormente cuantificar los compuestos bioactivos fenoles (mg AG/g) y flavonoides (mg EQ/g), así como evaluar la capacidad antioxidante (mg EAA/g). Los datos obtenidos fueron evaluados por triplicado, y se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de rango múltiple de Tukey ($P < 0.05$) en el software estadístico IBM SPSS Statistics 21. La comparación de medias mostró que los tratamientos de luz y oscuridad tuvieron variación en las concentraciones de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante para ambos hongos en medio líquido. En el tratamiento de luz para *H. erinaceus*, se encontraron valores máximos a los 15 días para fenoles (78.45 mg AG/g ES), flavonoides (25.61 mg EQ/g ES) y CAT (107.82 mg EAA/g ES); y en oscuridad a los 10 días en fenoles (101.15 mg AG/g ES) y CAT (117.29 mg EAA/g ES), mientras que en flavonoides fue a los 25 días (7.14 mg EQ/g ES). *C. militaris* presentó valores máximos a los 25 días para fenoles (59.70 mg AG/g ES), flavonoides (87.93 mg EQ/g ES) y CAT (119.86 mg EAA/g ES); y en oscuridad a los 10 días en fenoles (78.50 mg AG/g ES) y CAT (157.30 mg EAA/g ES), mientras que en flavonoides fue a los 25 días (14.03 mg EQ/g ES). La cepa *C. militaris* resultó con el mayor contenido de compuestos bioactivos, además se encontró similitud en ambas cepas en cuanto a los tiempos de picos máximos de compuestos bioactivos. Se concluye que el efecto de la luz en los hongos incrementa la composición de mico-compuestos en medio líquido.

INTRODUCCIÓN

Los hongos *Hericium erinaceus* y *Cordyceps militaris* han sido utilizados con fines medicinales en China, Japón, Corea y otros países asiáticos, ya sea por su actividad biológica o farmacológica; entre los que destacan principalmente compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes, incluidas las antiinflamatorias, antitumorales, anti proliferativas y antidiabéticas (Kho *et al.*, 2016). En la producción de hongos a nivel industrial y semiindustrial se emplean diferentes sustratos sólidos como bagazo de caña, aserrín de encino, cascarilla de café, arroz, entre otras mezclas como fuente de carbono (Chávez-García *et al.*, 2008). Debido a la capacidad que tienen los hongos de desarrollarse en diversos sustratos y condiciones medio ambientales, se han cultivado en medio líquido; como una herramienta para obtener compuestos bioactivos distintos a los encontrados en el cuerpo fructífero en menor tiempo (Suárez-Arango y Nieto, 2013). La mayoría de las especies de hongos responden y se adaptan a diversos estímulos ambientales incluida la luz, que favorece la productividad de ciertos compuestos bioactivos, dicho estímulo también se relaciona con la formación de cuerpos fructíferos. Kho *et al.* (2016) reportaron que especialmente la luz LED intensifica la producción de metabolitos secundarios. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la

luz-LED en la producción de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante del hongo *Hericium erinaceus* y *Cordyceps militaris* en cultivo líquido en condiciones controladas de luz-LED azul.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Como material biológico se utilizaron la cepa comercial CYM2021C1 de *Cordyceps militaris* de la empresa Notsi micofinca, ubicada en la ciudad de Querétaro, México y la cepa silvestre CCH003 *Hericium erinaceus* perteneciente a la región de El Salto, Pueblo Nuevo, Durango (Laboratorio de biotecnología de hongos del CIIDIR-IPN-DGO).

Para la propagación y el mantenimiento del micelio de las cepas, se colocaron 0.5 mL de cada una en matraces Erlen Meyer con 150 mL de caldo extracto de malta y se mantuvieron en agitación continua durante 21 días a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar, dos tratamientos con 12 repeticiones y un total de 24 unidades experimentales (150 mL de caldo extracto de malta más 3 mL de micelio líquido de cada cepa por separado). Para el primer tratamiento 12 matraces fueron expuestos a luz-LED blanca y se fueron tomando muestras por triplicado a los días 10, 15, 20 y 25 días; las muestras obtenidas fueron almacenadas en un ultra-congelador hasta su utilización de acuerdo con Montoya *et al.* (2018). El segundo tratamiento se mantuvo en oscuridad total extrayendo muestras los mismos días que en el tratamiento con luz.

Evaluación de los compuestos bioactivos

Para determinar la capacidad antioxidante de las cepas, se preparó un extracto crudo etanólico de la siguiente manera. A cuatro gramos de micelio fresco de cada una de las cepas se le agregaron 40 mL de una solución de etanol al 80% (v/v) para su maceración en oscuridad durante 72 hrs, después dichas muestras fueron sonicadas una hora y posteriormente se centrifugaron a 6000 rpm durante 10 minutos para recuperar el sobrenadante, el cual se llevó a sequedad para conseguir un rendimiento final de 50 mg/mL utilizando etanol al 80% para obtener una solución concentrada y preparar diluciones finales a 10 mg/mL.

La cuantificación de fenoles totales se realizó siguiendo el método de Folin- Ciocalteu (Nurmi *et al.*, 1996), por análisis de regresión lineal de una curva de calibración de ácido gálico (AG) (Sigma-Aldrich, pureza 99.9%) y un coeficiente de correlación de $r = 0.997$. El contenido de fenoles totales se expresó en miligramos equivalentes de AG por gramo de muestra seca (MS) (mgEAG.gMS-1).

La determinación de flavonoides totales se realizó por la técnica de Woisky y Salatino (1998). Se construyó una curva estándar de quercetina con alícuotas de 1 hasta 140 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de una solución etanol/agua 50% (v/v) contra su absorbancia $r = 0.9988$. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Genesys105 UV-Vis Termo Scientific a una absorbancia de 405 nm. El contenido de flavonoides totales fue expresado como miligramos equivalentes de quercetina (EQ) por gramo de muestra seca (mgEQ.gMS-1).

La capacidad antioxidante total fue determinada usando el reactivo de fosfomolibdeno siguiendo la técnica propuesta por Prieto y Aguilar (1999), la absorbancia de cada muestra se midió a 695 nm ($r = 0.9921$). El ácido ascórbico (AA, 1 mg. mL^{-1}) fue usado como referencia para construir la curva de calibración de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich) usando seis concentraciones entre 0,1 y 1 mg AA. mL^{-1} con un coeficiente de correlación $r = 0.9921$. Los resultados de las muestras se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico por g de extracto seco (mgEAA.gES-1).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados por triplicado y se analizaron por un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rango múltiple de Tukey ($P < 0.05$), y se procesaron en el software estadístico IBM SPSS Statistics 21.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación con la cepa *H. erinaceus* para el tratamiento con luz, se encontraron valores máximos a los 15 días para fenoles (78.45 mg AG/g ES), flavonoides (25.61 mg EQ/g ES) y CAT (107.82 mg EAA/g ES) y en oscuridad a los 10 días en fenoles (101.15 mg AG/g ES) y CAT (117.29 mg EAA/g ES); mientras que en flavonoides fue a los 25 días (7.14 mg EQ/g ES). El hongo *C. militaris* presentó

valores máximos a los 25 días para fenoles (59.70 mg AG/g ES), flavonoides (87.93 mg EQ/g ES) y CAT (119.86 mg EAA/g ES) y en oscuridad a los 10 días en fenoles (78.50 mg AG/g ES) y CAT (157.30 mg EAA/g ES); mientras que en flavonoides fue a los 25 días (14.03 mg EQ/g ES) (Tabla 1). Oh *et al.*, (2014) reportó valores menores de flavonoides para la especie *C. pruinosa* (64.08 mg EAG) empleando tratamiento en oscuridad. Tee (2006) menciona que el contenido fenólico varía según el sustrato y condiciones ambientales y esto puede tener efectos directos en el metabolismo. Tal y como se observó en este estudio, donde el estímulo de luz favoreció positivamente la producción de fenoles. La concentración de flavonoides totales presentó incrementos en la concentración a través del tiempo, comportamiento que coincide con lo reportado por Ha *et al.* (2022). Se encontró una correlación positiva entre la concentración fenólica y la capacidad antioxidante total bajo la exposición a luz-LED, lo que coincide con los valores reportados por Meng-Yuan *et al.* (2017). Al término del experimento la cepa *C. militaris* presentó el mayor contenido de flavonoides y CAT, en comparación con los máximos valores de fenoles para el hongo *H. erinaceus*.

Tabla 5. Comparación de medias de la concentración de micocompuestos de *H. erinaceus* y *C. militaris* del día 10 al 25 en tratamientos de luz-LED y oscuridad.

Días/Luz		Fenoles (mg EAG/g ES)		Flavonoides (mg EQ/g ES)		CAT (mg EAA/g ES)	
Especie	<i>H. erinaceus</i>	<i>C. militaris</i>	<i>H. erinaceus</i>	<i>C. militaris</i>	<i>H. erinaceus</i>	<i>C. militaris</i>	
10	72.44± 1.23 b	45.00± 1.93 b	15.76±1.27 b	16.70± 1.03 c	99.45± 1.0 b	60.46± 2.86 c	
15	78.45± 1.93 a	46.63± 1.76 b	25.61±1.67 a	32.33± 4.11 c	107.82± 1.11 a	68.20± 4.35 bc	
20	71.49± 1.19 b	48.96± 1.24 b	24.44±1.56 a	59.70± 5.19 b	106.98± 1.19 a	81.06± 3.42 b	
25	69.1± 1.31 b	59.70± 1.61 a	22.47 ±1.63b	87.93± 4.14 a	104.22± 1.25 a	119.86± 5.90 a	

Días/Oscuridad							
Especie	<i>H. erinaceus</i>	<i>C. militaris</i>	<i>H. erinaceus</i>	<i>C. militaris</i>	<i>H. erinaceus</i>	<i>C. militaris</i>	
10	101.1± 1.25 a	78.50± 4.53 a	4.23± 1.11b	7.50± 0.20 b	117.29± 1.78 a	157.30± 1.09 a	
15	87.45± 1.19b	54.73± 2.29 b	5.64± 1.23b	6.06± 0.89 b	100.45± 1.54 a	105.16± 1.61 b	
20	66.34±1.27b	44.83± 1.35 b	6.67± 1.8 b	9.56± 0.31 b	88.65± 1.12b	89.53± 2.20 c	
25	32.33 ±2.24c	22.33± 0.92 b	7.14± 1.1 a	14.03± 1.34 a	45.78± 1.87 c	44.83± 1.95 d	

CONCLUSIONES

La luz-LED mostró un efecto positivo en el incremento de micocompuestos en los hongos analizados. Con el tratamiento con luz-LED el contenido fenólico, flavonoides y la capacidad antioxidante presentaron incrementos conforme a la duración del tratamiento para la cepa *C. militaris* y *H. erinaceus* alcanzó las mayores concentraciones a los 15 días. Mientras que, en el tratamiento con oscuridad, fue inverso para ambas cepas (excepto para flavonoides). Además, se determinó que existe una correlación positiva entre el contenido fenólico y la capacidad antioxidante. El implementar el cultivo en medio líquido manipulando el efecto de luz-LED puede ser un método rápido y eficaz para modular la producción de compuestos bioactivos medicinales de utilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Chávez-García, M., Montaña-Lara, J. S., Martínez-Salgado, M. M., Mercado-Reyes, M., Rodríguez, M. X. y Quevedo-Hidalgo, B. (2008). Efecto del sustrato y la exposición a la luz en la producción de una cepa de *Trichoderma* sp. *Universitas Scientiarum*, Vol. 13 N° 3, 245-251. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832008000300003&lng=en&tlng=es.
- Ha, S.Y., Jung, J.Y., Park, H.M. y Yang, J.K. (2022). Comparison of metabolic profile of mycelia and fruiting bodies of artificially cultured *Cordyceps militaris*. *Journal of Mushrooms*, 20 (1), 13-21.
- Kho, C.-H., Kan, S.-C., Chang, C.-Y., Cheng, H.-Y., Lin, C.-C., Chiou, P.-C., ... Liu, Y.-C. (2016). Analysis of exopolysaccharide production patterns of *Cordyceps militaris* under various light-emitting diodes. *Biochemical Engineering Journal*, 112, 226–232. DOI: 10.1016/j.bej.2016.04.028.
- Meng-Yuan, H., Kuan-Hung, L., Chien-Chun, L., Li-Ru, C., Tung-Chuan, H. & Wen-Ting, C. (2017). The intensity of blue light-emitting diodes influences the antioxidant properties and sugar content of oyster mushrooms (*Lentinus sajor-caju*). *Scientia Horticulturae*. 18 pp 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.014>.
- Montoya, S., López, D. & Segura, B. (2018). Influencia de la luz azul sobre la productividad del cultivo sólido de *Ganoderma lucidum*. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XX No. 1, 51 – 58. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73674.
- Nurmi, K., Ossipov, V., Haukioja, E., & Pihlaja, K. (1996). Variation of total phenolic content and low-molecular-weight phenolics in foliage of the mountain birch trees (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*). *Journal of Chemical Ecology*, 22, 2023–2040. <https://doi.org/10.1007/BF02040093>.
- Oh, T.J., Hyun, S.H., Lee, S.G., Chun, Y.J., Sung, G.H. y Choi, H.K. (2014). Perfiles metabólicos basados en RMN y GC-MS y actividades de eliminación de radicales libres de micelios de *Cordyceps pruinosa* cultivados en diferentes medios y condiciones de luz. *PLoS One*, 9(3), e90823. DOI: 10.1371/journal.pone.0090823.
- Prieto, P., and Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- Suárez-Arango, C. & Nieto, I. J. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la producción de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1): 1-8.
- Tee, S. (2006). Setas, identificación y recolección. ISBN 140547806. Parragón.
- Woisky, R. G., and Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, 37(2), 99- 105. <https://doi.org/10.1080/00218839.1998.11100961>.

PRODUCCIÓN DE RÁBANO (*RAPHANUS SATIVUS* L.) CON HUMUS DE LOMBRIZ

Lucelia Mora Ojendiz , Jose Angel Morales Añorve, Cesar Cristobal Hernandez, Eugenia Pacheco Cantu

Universidad Intercultural del Estado de Guerrero
lucy-uaaan@hotmail.com

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue realizado en la comunidad de Santa María Asunción, municipio de Ometepepec, Guerrero, con el objetivo de evaluar el efecto que tienen diferentes dosis de humus de lombriz en el cultivo de rábano, el diseño experimental que se utilizó fue de bloques completos al azar, con 7 tratamientos y 3 repeticiones cada uno. Cada unidad experimental fue de 1 m², las variables evaluadas fueron emergencia, altura de la planta, número de hojas, diámetro del tallo y peso del rábano con y sin follaje. Según Gaunche, 2015, menciona que la dosis de uso para hortalizas es de: 1 kg/m², de 50 a 120 g/planta. Con base a esta referencia se plantearon unas nuevas dosis de humus que se encuentran en un rango alrededor de la recomendada por Gaunche. Las dosis que se establecieron en este trabajo de investigación, fueron las siguientes: 250 g, 500 g, 1 kg (el recomendado por Gaunche, 2015), 1.5 kg, 2 kg.

Los resultados mostraron que las diferentes dosis aplicadas al cultivo si tuvieron un efecto en el cultivo, encontrando que la dosis más alta de 2 kg por 1 m² (T5) fue la que obtuvo estadísticamente los valores más altos en cuanto al peso del rábano con 26.8 g.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es considerada una actividad del sector primario debido a que utiliza los recursos naturales como agua y suelo. Hoy en día debido al incremento de la población la demanda de alimentos es cada vez mayor, trayendo consigo la intensificación de las prácticas agrícolas, como por ejemplo el uso intensivo de agroquímicos, lo cual trae como consecuencia problemas ambientales como contaminación del suelo, del agua, entre otros.

Por ello, la agricultura orgánica surge como una alternativa ante esta problemática creciente, tratando de utilizar lo menos posible o en su caso sustituir los productos químicos por orgánicos.

En este tenor, la producción de hortalizas a pequeña escala es una práctica recurrente en muchas comunidades, debido a que se pueden establecer en pequeños espacios, son de ciclo fenológico corto, entre otros. Un ejemplo es la producción de rábano, el cual es una hortaliza de ciclo fenológico corto, no requiere de mucho manejo, por ello es una especie muy utilizada en los huertos familiares. Por esta razón en el presente trabajo de investigación se evaluó la efectividad del humus de lombriz en el cultivo de rábano, obteniendo resultados favorables para implementar el uso de este abono en dicho cultivo y poder contrarrestar el uso de los agroquímicos utilizados en la etapa de fertilización. Por tanto, una vez realizado el experimento, los resultados mostraron que si hay un efecto en el comportamiento del cultivo a aplicar diferentes dosis de abono orgánico, encontrándose que estadísticamente el tratamiento 5 correspondiente a la dosis de 2 kg presentó mejores resultados en cuanto al rendimiento del rábano.

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, el cual consistió en establecer un diseño de bloques al azar, esto con el fin de evaluar el efecto de diferentes dosis de humus de lombriz en el cultivo de rábano. Materiales utilizados

Los materiales necesarios para la realización del presente trabajo de investigación fueron los siguientes: Material genético: en cuanto al material genético utilizado, se utilizó la semilla del rábano variedad "rabanito", obtenida de manera comercial en una tienda agrícola. Abono orgánico: el abono orgánico utilizado en el presente trabajo fue el humus de lombriz, el cual se adquirió en un vivero.

Además, se utilizaron materiales de campo como: machete, flexómetro, una báscula, entre otros.

El humus de lombriz para este trabajo de investigación, fue obtenido en un vivero, la marca fue LOMBRIX.

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar con siete tratamientos y tres repeticiones cada uno, tal y como se describe en la siguiente tabla.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento.

Tratamiento	Referencia	Descripción
Tratamiento 1	T1	250 g de humus
Tratamiento 2	T2	500 g de humus
Tratamiento 3	T3	1 kg de humus
Tratamiento 4	T4	1.5 kg de humus
Tratamiento 5	T5	2 kg de humus
Tratamiento 6	T6	Tierra compuesta
Tratamiento 7	T7	Testigo

Limpieza del terreno: Esto se hizo con la ayuda de machetes y una tarcua; se cortó la maleza a ras del suelo, lo más corto posible, y con un rastrillo se jaló todo el material vegetal desechado hacia afuera de la línea marcada como perímetro del experimento.

Trazo de las unidades experimentales: Se trazaron los cuadros para cada unidad experimental; esto se logró con la ayuda de un flexómetro, rafia y estacas.

Con el flexómetro se midió la de la línea perimetral hacia adentro 50 cm, que fueron los centímetros que se le dejaron para el pasillo de cuadro a cuadro. Después se midió un metro cuadrado y luego se repitieron los 50 cm, y así sucesivamente hasta tener los cuadros requeridos (Figura 1).



Figura 1. Trazo de los bloques.

Aplicación de los tratamientos

Según Gaunche, 2015, menciona que la dosis de uso para hortalizas es de: 1 kg/m², de 50 a 120 g/planta.

Con base a esta referencia se plantearon unas nuevas dosis de humus que se encuentran en un rango alrededor de la recomendada por Gaunche. Las dosis que se establecieron en este trabajo de investigación, fueron las siguientes:

- 250 g
- 500 g
- 1 kg (el recomendado por Gaunche, 2015)
- 1.5 kg
- 2 kg

Siembra

Para la siembra se tomaron en cuenta otros estudios realizados con el rábano. Primeramente, se obtuvo la semilla de manera comercial, siendo esta de rabanito.

Se utilizó el método de siembra directa, 10 surcos con distancia de 10 cm entre surco y surco, en total se sembraron 100 semillas por metro cuadrado.

Cosecha

La cosecha se realizó manualmente (Figura 2). Para ello se humedeció el terreno donde había plantas y luego se procedió a arrancar el rabanito.

Así mismo, al momento de la cosecha también se realizaron las evaluaciones de algunas variables requeridas para el presente trabajo de investigación. Para las variables se eligió evaluar el 20 % de las plantas, lo cual consistió en evaluar 20 plantas por cada unidad experimental.



Figura 2. Cosecha.

Variables evaluadas

Emergencia

Para esta variable se contabilizaron las plantas que había en el momento de la evaluación, esto se realizó a los 7 días después de la siembra.

Altura de la planta

Para ello se midió desde donde inicia el tallo de la planta, hasta la punta del follaje.

Número de hojas

Para llevar a cabo la evaluación de esta variable se tuvieron que contabilizar las hojas del 20 % de las plantas de cada unidad experimental.

Diámetro del tallo

La evaluación se realizó a 20 plantas por unidad experimental.

Peso (rendimiento)

Esto consistió en pesar en una báscula digital el rabanito, realizándose de maneras diferentes:

a) Rabanito con follaje

b) Rabanito sin follaje

Análisis de datos

Una vez realizado el experimento, los datos obtenidos se capturaron en una base de datos del programa Excel, posteriormente se analizaron con el paquete estadístico SAS versión 9.0, de donde se obtuvo un análisis de varianza y la prueba de comparación de medias.

RESULTADOS

Emergencia

Con respecto a esta variable, el ANOVA ($P \leq 0.05$) no encontró diferencias estadísticas significativas para los diferentes tratamientos (Tabla 2).

Tabla 2. Resultado del análisis de varianza ($P \leq 0.05$) para la variable emergencia.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados de la media	Valor de F	Valor de P
Tratamientos	6	252.5714286	42.0952381	0.85	0.5552
Error	14	696.0000000	49.7142857		
Total	20	948.5714286			
C.V.	13.59665				

C.V.= Coeficiente de variación

La comparación de media LSD arrojó que todos los tratamientos son estadísticamente iguales, sin embargo, el T4 presentó mejores resultados en cuanto a la emergencia de las plantas (Tabla 3 y figura 3).

Tabla 3. Prueba de comparación de medias (Diferencia Mínima Significativa) para la variable emergencia.

Tratamientos	Media (%)	Agrupación t
T 4 (1.5 kg de humus)	56.000	A
T 3 (1 Kg de humus)	54.333	A
T 5 (2 kg de humus)	54.000	A
T 6 (Tierra compuesta)	53.000	A
T 2 (500 gr de humus)	52.333	A
T 1 (250 gr de humus)	47.333	A
T 7 (Testigo)	46.000	A

Agrupamiento t: Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

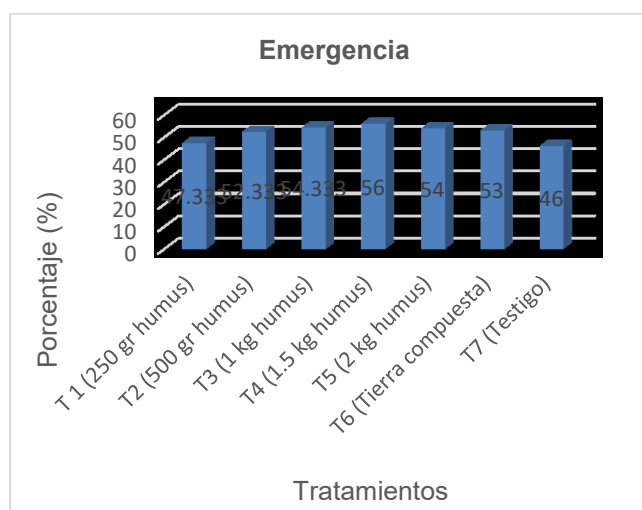


Figura 3. Representación gráfica en porcentaje de la variable emergencia.

Altura de la planta (cm)

La comparación de medias muestra que hay diferencias estadísticas entre los tratamientos, en donde el T3 presentó la mejor altura de la planta con 16.7 cm, seguido de los tratamientos T4, T5, T2 y T1 que resultaron ser estadísticamente iguales, en tanto que el T1 fue el tratamiento que presentó el promedio más bajo en cuanto a la altura con tan solo 15.4 cm.

Número de hojas por planta

La comparación de media LSD muestra que todos los tratamientos son iguales estadísticamente.

Diámetro del tallo (mm)

Los tratamientos 5 y 3 presentaron los mejores promedios en cuanto al diámetro de tallo de las plantas con 2.8 y 2.7 mm, respectivamente, mientras que los tratamientos 4, 2, 6 y 1 estadísticamente son iguales. Por su parte el T7 fue el tratamiento que obtuvo el promedio más bajo con 2.02 mm.

Peso del rábano con follaje

Para esta variable el T5 fue el mejor tratamiento debido a que alcanzó el mejor valor con 26.8 gr. Los tratamientos 3, 2, 4, 1 y 6 fueron estadísticamente iguales, en tanto que el T7 fue el tratamiento con menos peso obteniendo un promedio de 13.9 gr.

Peso del rábano sin follaje

La prueba de comparación de medias LSD, indica que los T5 y T3 fueron los mejores, debido a que presentaron 18.1 y 17.9 gr en esta variable, siendo estadísticamente iguales. Por su parte los T2, T4, T1 y T6 resultaron ser también iguales estadísticamente, sin embargo presentaron diferencias numéricas, el T7 presentó el promedio más bajo con 7.5 gr.

CONCLUSIONES

Una vez finalizado el presente trabajo de investigación y a través de los resultados obtenidos, se puede constatar que la utilización de diferentes dosis de fertilización en el cultivo si presentan diferencias en cuanto al crecimiento de la planta y peso del rábano, razón por la cual la utilización de abonos orgánicos puede ser una alternativa en la fertilización de cultivos.

Los resultados mostraron que en la variable emergencia estadísticamente los tratamientos se comportaron de la misma forma, en la altura de la planta el mejor tratamiento fue la dosis de 1 kg, mientras que en el número de hojas las dosis no presentaron diferencias, para el caso del peso con y sin follaje las dosis de 2 kg y 1 kg estadísticamente fueron iguales, debido a que los tratamientos aplicados si mostraron diferencias en alguna de las variables evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gaunche García, A. (2015). *Las lombrices y la agricultura*. AgroCabildo. <https://vdocuments.mx/gua-ecnica-las-lombrices-y-la-agricultura-y-la3-informacin-ecnica-las-lombrices.html>

FORMULACIÓN DE ALIMENTOS FUNCIONALES ELABORADOS CON HARINA DE BAGAZO DE VINO TINTO

Erika Ramos Ojeda, Christian Oliver Díaz Ovalle, Fabiola Herrera Enciso

Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México Roque
erika.ro@roque.tecnm.mx

RESUMEN

El proceso de vinificación de vino tinto genera un 45% de subproducto conocido como orujo, el cual normalmente es utilizado como abono o como alimento para ganado (González,2018). En cuanto su composición del bagazo es aproximadamente 30% de polisacáridos, 20% de pectinas y 15% de proantocianidinas, lignina, proteínas y compuestos polifenólicos. Es considerado alto en antioxidantes (Davila,2017). Los compuestos polifenólicos provenientes de extracto de orujo han sido probados para inhibir el crecimiento de células cancerígenas esto se lo atribuyen al alto contenido de compuestos como flavonoides y proantocianidinas(Lazze,2009), por lo que el aprovechamiento del bagazo del vino tinto en la elaboración de innovación y desarrollo de nuevos productos funcionales que además de proporcionar cantidades importantes de nutrientes, aporten un efecto beneficioso a la salud, esto es debido al aumento considerable de obesidad y enfermedades degenerativas. Por lo que la presente investigación tiene como objetivo el aprovechamiento del bagazo para la elaboración de galletas y baguette, en donde se realizaron tres formulaciones para cada uno de los subproductos. Así mismo se realizó la evaluación fisicoquímica, perfil de textura (TPA) y evaluación sensorial a cada formulación; así mismo, para evaluar los atributos de color, olor, sabor por medio de una escala hedónica de siete puntos. De los resultados obtenidos, se obtuvo que, el uso de harina de bagazo y de amaranto al 15%-85% es la formulación más aceptada, con un porcentaje de fibra del 5.4901 %, además de obtener una alta puntuación en la evaluación sensorial, un valor de proteína del 2.2876 %, una humedad de 2.7542, acompañada de a_w de 0.343 y una cantidad de grasa y cenizas de 32.0468 y 2.9650% respectivamente. La combinación de estas harinas puede ser utilizadas por la industria alimentaria para producir productos de nivel nutrimental y contribuir en la sustentabilidad.

INTRODUCCIÓN

El vino tinto es una bebida resultante de la fermentación alcohólica, completa o parcial, de uvas frescas estrujadas, o de mosto de uva con un contenido de alcohol mayor al 8,5% vol (Vázquez,2023). Hoy en día, México es uno de los principales productores de vino en América Latina. La producción de vino en México representa solamente el 0.16% del total mundial, con una producción de 38000 toneladas anuales, en los últimos años el consumo nacional de vino va en aumento en promedio de un 10 -13% anual. Por lo que el proceso de vinificación genera aproximadamente un 40-60% de subproducto conocido como orujo, el cual es rico en fibra y compuestos polifenólicos (González,2017)

El bagazo de uva, es un subproducto resultante de la extracción del mosto en la obtención del vino. Es un producto complejo formado por los tallos, piel, pulpa, semillas y racimos que quedan después del prensado de la uva, y cuyo contenido en materia seca es de un 31%. Es un producto con un elevado contenido en carbohidratos fibrosos, lignina y polifenoles. (Franzy,2003).

La variedad de vino tinto depende de los tipos de uvas utilizadas en el proceso de elaboración, entre ellas se encuentra tempranillo, grenach, merlot, pinoit noir, syrah, zinfandel, malbec, cabernet sauvignon. (Gonzales, 2017). Existe una alta gama en la producción de vinos, desde los afrutados y espontáneos hasta los más deseados vinos de reserva.

En la actualidad se ha incrementado la innovación y desarrollo de nuevos productos que además de proporcionar cantidades importantes de nutrientes aportan un efecto beneficioso a la salud, ya que existe un aumento considerable de obesidad y enfermedades asociadas en donde parte de la población se ha interesado en mejorar sus hábitos alimenticios, consumiendo productos con alto nivel nutrimental.

METODOLOGÍA

Se elaboró tres formulaciones para cada uno de los productos funcionales. En donde se hizo una combinación de harinas debido a que la harina del bagazo de vino tinto es muy fuerte al grado de lograr el amargor en el producto, por ello se consideró en mayor proporción la harina de amaranto y arroz.

Para la elaboración de las galletas se realizaron las formulaciones con las siguientes proporciones: 15% de harina de bagazo (HBU) y 85% harina de amaranto (HA), 10% HBU -90% HA, y 5% HBU – 95% HA. De igual manera se realizaron tres formulaciones para la elaboración de baguette adicionando harina de arroz. Con 49%(HA) harina de amaranto, 2%(HBU) harina de bagazo y 49%(Har) harina de arroz, 24% HA-2%HBU-74% Har y 74% HA-2%HBU-24%Har.

Se realizaron los análisis correspondientes para conocer el contenido nutricional que presentan las galletas y el baguette elaboradas con harina de bagazo de uva de vino tinto Tempranillo y Grenach respectivamente, a cada una de las formulaciones seleccionadas se les hizo su determinación de humedad, proteína, grasa, fibra, cenizas, perfil de textura (TPA) y la evaluación sensorial de cada uno de sus atributos. Así mismo se evaluaron marcas comerciales para realizar las comparaciones correspondientes.

Para llevar a cabo el análisis sensorial se realizaron pruebas de nivel de agrado, realizando un total de 50 pruebas con personas en un rango de edad de 18 a 25 años para saber cuál de las cuatro formulaciones realizadas era más del agrado de las personas.

Para evaluar cada formulación se tomaron en cuenta 4 características: color, sabor, olor y textura en donde las personas daban puntuación de 7 (me gusta mucho) a 1 (me disgusta mucho).

RESULTADOS

La determinación del porcentaje de humedad de las galletas, es un factor considerable porque influye directamente en la textura del producto, en la figura 1 se puede observar el porcentaje de cada formulación, sumada su comparación con las marcas estándar (comerciales), y, de acuerdo a la consulta, el valor obtenido respecto a cada una, la muestra 3 tiene un 4.424966288, aproximado solamente al 6.7% establecido en la literatura, esto quiere decir que mantiene un buen equilibrio de la cantidad de humedad y agua contenida en el alimento, se encuentra dentro de los valores de referencia.

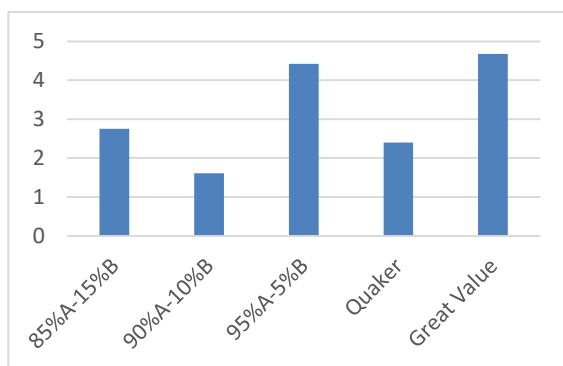


Fig 1. Determinación de humedad en la galleta

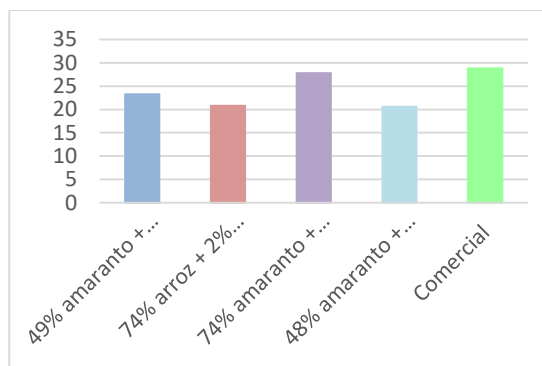


Fig 2. Determinación de humedad en el baguette

El baguette de 48% amaranto + 4% bagazo obtuvo una humedad del 20.60% la más baja indicado que no es factible proliferar hongos, pero tiende a endurecerse más rápido con el paso de los días, en caso contrario el baguette comercial obtuvo la humedad más alta con el 28.81% indicando lo contrario, en la figura 2 se pueden observar las características.

En la figura 3, se observa la cantidad de proteína de las galletas, es importante tener en cuenta que el valor proteico contenido en el bagazo de uva es aproximadamente entre un 13%-14%, de acuerdo a lo estipulado por (Ronald, 2011), el valor obtenido respecto a cada una, se aproxima al 10.5% del contenido de proteína para las galletas sin levadura, a excepción de la formulación 90% HA-10% HBU, ya que tiene un valor >15% a comparación del estándar.

De acuerdo a la NOM-F-159-S-1979, un pan blanco de trigo debe de contener como máximo un porcentaje de proteína del 9%. Por lo que las formulaciones y el baguette comercial no cumplen con la cantidad mínima de proteína quedándose muy por debajo de la cantidad mínima como se muestra en la figura 4.

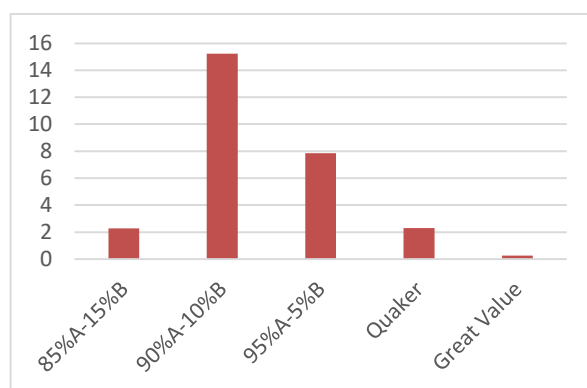


Fig 3. Determinación de proteína en la galleta

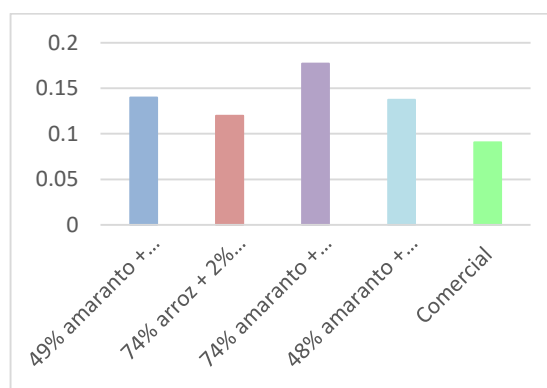


Fig 4. Determinación de proteína en el baguette

La determinación de grasa en las galletas es alto, debido al contenido de mantequilla que repercute directamente en su sabor, textura y exceso de grasa, en la figura 5 se aprecia el valor obtenido el cual excede al 1.9% establecido por la norma NOM-247-SSA1-2008.

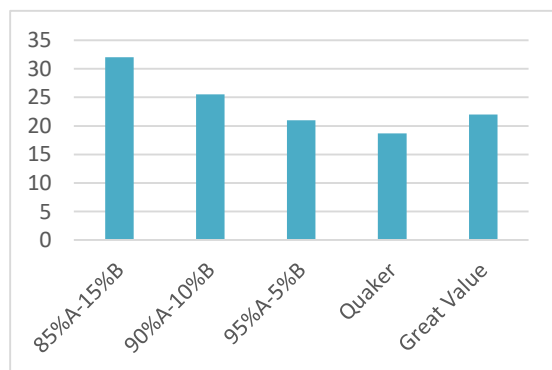


Fig 5. Determinación de proteína en la galleta

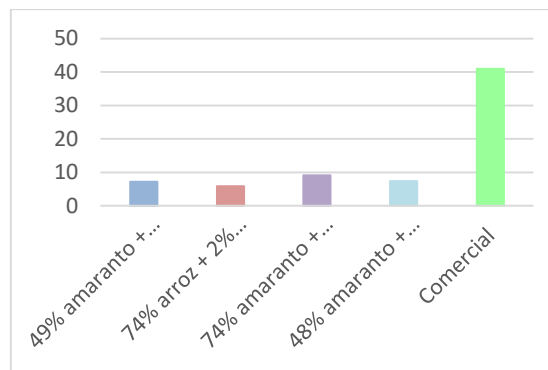


Fig 6. Determinación de proteína en el baguette

De acuerdo a la NOM-F-159-S-1979, un pan blanco de trigo debe de contener como máximo un porcentaje de grasa de 4%. Se aprecia que el baguette tiene una baja cantidad de grasa con respecto al comercial.

La fuente más común de fibra son los cereales, de acuerdo a la literatura el contenido de fibra de la harina de bagazo de uva (HBU), es muy elevado comparado con otras harinas integrales como avena (entre un 6% y 7%) y trigo (entre 6.5% y 9%) mientras que el bagazo de uva en polvo, más del 50% consiste en fibra (Gonzalez, 2018).

La figura 7 representa las galletas en sus combinaciones respectivas y su estándar, el valor obtenido de fibra, de acuerdo a los análisis y cálculos totales, demuestra que si existe una diferencia significativa entre ellas, y demuestra el contenido alto de fibra de cada una, la muestra 1 (con el

porcentaje más alto de bagazo) muestra 5.49018091% de fibra, 4.784239443 y 3.786686504 para la segunda y tercera respectivamente, es interesante que las galletas comerciales presenten 0.89993575 (Quaker) y 1.64908084 (Great Valué), porque en sus etiquetas declaran al menos para la Quaker un 5.7 g de fibra por cada 100 g reflejando que es mucho menos su cantidad contenida por el análisis, en cambio la otra comercial muestra 2.66 g por cada 100 g, lo cual es aún más bajo de acuerdo a lo obtenido.

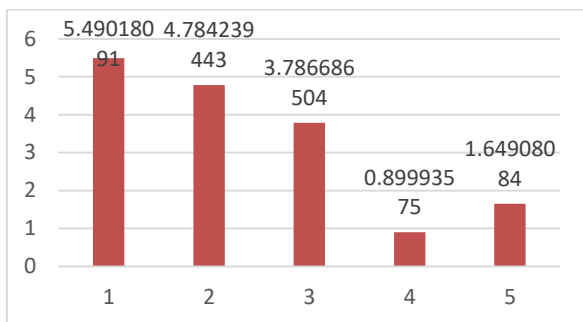


Fig 7. Determinación de fibra en la galleta

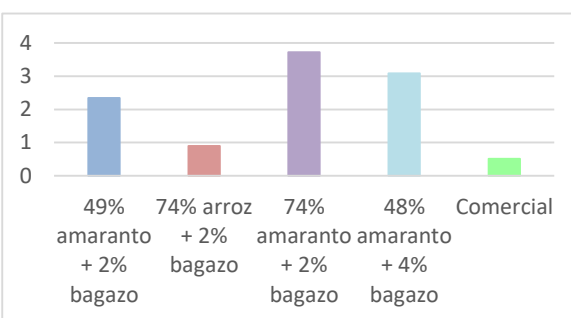


Fig 8. Determinación de fibra en el baguette

La variable de mayor interés es la fibra, se puede observar que en la figura 8 la formulación que contienen el 74% de amaranto contiene 3.8% fibra en donde la norma nos indica que en pan blanco contine 0.4% de esta muy por debajo de la obtenida.

Posteriormente se determinó el perfil de textura, el cual permitió analizar parámetros significativos de las galletas, como la dureza, fracturabilidad, masticabilidad, comparando las formulaciones elaboradas con la muestra comercial como estándar.

No se reportan valores de elasticidad, gomosidad, debido a que se analizaron muestras sólidas y estos únicamente son considerados para productos en estado semisólido.

En la Tabla 1 se observan los valores de las características del perfil de textura (TPA) obtenidas.

Tabla 1. Perfil de textura.

Muestra	Dureza (N)	Fracturabilidad (Kgf)
85%-15%	3974.728	4323.755
90%-10%	5854.477	2955.699
95%-5%	136.403	195.053
Quaker	374.870	398.003
Great Valué	2317.622	1676.016

Las muestras estándar, presentaron una dureza un poco inferior que las desarrolladas, esto tiene relación con el contenido de humedad de cada una, así como de sus demás componentes.

La muestra 95% HA – 5% HBU, presento una fracturabilidad de 195.053, a comparación de las comerciales, que de acuerdo a lo mostrado requiere mayor fuerza para ocasionar la fractura del alimento, con una alta dureza para hacerla pedazos, lo que representa la capacidad para masticar el bocado, involucra el contenido de humedad que contiene el alimento y los ingredientes, así como también las cantidades de harina de los mismos.

Como se puede apreciar en la Tabla 2 la muestra comercial presento una dureza mayor con respecto a dos formulaciones (48% amaranto + 4% bagazo y 74% amaranto + 2% bagazo) y menor en

comparación a las otras dos formulaciones restantes (49% amaranto + 2% bagazo y 74% arroz + 2% bagazo), esto tiene relación con la humedad presente en las muestras.

La elasticidad es una propiedad que por naturaleza varía con respecto al tiempo y es deseable que se encuentre en rangos menores a 1 y mide cuanto estructura original del alimento se ha deformado por la compresión inicial durante el ensayo de TPA.

Las cinco baguettes se encuentran dentro de este rango aceptable y con un rango muy corto de diferencia entre sí.

La masticabilidad se encuentra estrechamente relacionada con la dureza por la cohesividad y la elasticidad, por lo que entre menos humedad tenga el producto, mayor será el trabajo requerido para desintegrar el alimento.

Tabla 2. Perfil de textura del baguette (TPA)

Muestra	Dureza (kg m ² s ⁻²)	Adhesividad (kg m ² s ⁻²)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad
Comercial	1440.656	-0.152	0.923	0.857	1110.788
49% amaranto + 2% bagazo	1611.489	-0.283	0.708	0.400	444.176
74% arroz + 2% bagazo	3747.570	-0.235	0.706	0.311	834.242
74% amaranto + 2% bagazo	1308.535	-7.861	0.777	0.564	579.149
48% amaranto + 4% bagazo	1219.719	-3.165	0.817	0.562	547.719

La prueba sensorial mostro diferencias significativas entre las galletas estándar y la galleta que presento la mayor aceptabilidad. La adición de harina de bagazo de uva (tempranillo) provocó cambios funcionales y de textura significativos que afectaron de manera positiva los atributos de calidad de las galletas. Mientras que para el baguette cada característica evaluada se puede deducir que la formulación de mayor agrado en todos los aspectos es la 787 (74% amaranto + 2% bagazo).

CONCLUSIONES

Después de los análisis de la galleta, se determinó que la formulación con el 85% harina de amaranto y 15% harina de bagazo presento los atributos: fibra del 5.4901 %, proteína del 2.2876 %, humedad de 2.7542, a_w de 0.343 y cenizas de 2.9650%. La cantidad de fibra obtenida, comprueba que en efecto si existe diferencia significativa entre cada tratamiento, recordando que el bagazo es rico en este compuesto, ayudando en parte a prevenir enfermedades. Mientras que para el baguette, se determinó que la formulación con 74% amaranto + 2% bagazo y el resto harina de arroz presento los siguientes atributos: 27.77% de humedad, 9.06% de grasa, proteína con 0.17%, 3.41% de

cenizas y 3.71% de fibra; que en comparación con el baguette comercial con atributos de: humedad de 28.81%, 40.95% de grasa, 0.09% de proteína, de cenizas 2.49% y de fibra 0.51%, es mejor en la mayoría de los aspectos. Ambas formulaciones fueron sensorialmente aceptadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dávila, I., Robles, E., Egüés, I., Labidi, J., & Gullón, P. “ *The Biorefinery Concept for the Industrial Valorization of Grape Processing By-Products*”. In Galanakis C. M.(Ed.), Handbook of Grape Processing By-Products: Sustainable Solutions pp. 29-53, 2017, London, UK: Elsevier.
2. Flanzy, C. 2003. Enología: *Fundamentos científicos y tecnológicos*. A. Madrid Vicente, Ediciones; Ediciones Mundi-Prensa.
3. González, G., Hernández, A., Milan, J., Vallejo, B., & González, A.”*Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria para la obtención de compuestos bioactivos*” pp 458-491, 2018, AGT Editor, S.A.
4. Lazze, M. C., Pizzala, R., Gutiérrez Pecharromán, F. J. Gatón Garnica, P., Antolín Rodríguez, J. M., Fabris, N., & Bianchi, L. “*Grape Waste Extract Obtained by Supercritical Fluid Extraction Contains Bioactive Antioxidant Molecules and Induces Antiproliferative Effects in Human Colon Adenocarcinoma Cells*”. Journal of Medicinal Food, 12(3), 2009, pp561-568.
5. Ronald S. Kirk, R. S. (2011). *Composicion y analisis de alimentos de Pearson*. Mexico: Patria.
6. Vázquez Ariel, N. C. (2022). *La industria vitivinicola mexicana en el siglo XXI: retos económicos, ambientales y sociales*. Mexico: Printed and made in Mexico.

EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO (*E. GLOBULUS*) COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO DE ANTRACNOSIS

Maribel Flores González¹, Josefina Aguila López², Julieta S. Veloz Rendón¹, José F. Sánchez Ramírez¹.

Instituto Politécnico Nacional-CIBA¹, IPN-UPIITA
mfloresgo@ipn.mx

RESUMEN

La antracnosis es una enfermedad fúngica provocado por el hongo *Colletotrichum* spp., que afecta a una gran variedad de cultivos, en hojas, tallos y frutos. Esta enfermedad provoca que el cultivo sea vulnerable al ataque de hongos patógenos, afectando la calidad y la vida útil del fruto principalmente cuando se encuentran en condiciones de humedad relativamente alta. Para el control de la antracnosis generalmente se utiliza fungicidas químicos sintéticos. Sin embargo, este tipo de control puede tener efectos negativos importantes en el medio ambiente, en la farmacorresistencia de patógenos y en la salud. El creciente interés por productos comerciales libres de tóxicos ha buscado alternativas para generar aditivos funcionales contra hongos fitopatógenos. Diversos estudios apuntan que algunos aceites esenciales (AEs) han demostrado tener efecto inhibitorio en el desarrollo de la antracnosis. El objetivo del presente estudio fue evaluar *in vitro* el efecto fungicida del AE de eucalipto en *Colletotrichum* spp. Se identificó morfológicamente y molecularmente (ITS-PCR) a la especie de *Colletotrichum gloeosporioides*. El AE de eucalipto se extrajo por hidrodestilación y se caracterizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) donde el principal componente fue eucaliptol (51%). Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) se determinaron por la técnica de medio envenenado. De acuerdo con los resultados, el AE de eucalipto presentó actividad fungicida en CMI de 1380 y 1750 $\mu\text{L/L}$, en un 50 y 80 % respectivamente. La germinación de conidios de *C. gloeosporioides* se inhibió en 80 % con el AE de eucalipto en una concentración de 1750 $\mu\text{L/L}$. Por lo tanto, los resultados obtenidos nos indican que el AE de eucalipto puede inhibir el crecimiento de *C. gloeosporioides* en un 80 % con una concentración de 1750 $\mu\text{L/L}$.

INTRODUCCIÓN

La antracnosis es una infección causada por el hongo fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* y actualmente es la principal enfermedad fúngica que afecta a una gran variedad de cultivos, en pre y poscosecha (Manpreet, et al., 2023). La enfermedad se presenta como una infección quiescente en frutos inmaduros, sin embargo, durante el periodo poscosecha (figura 1) los frutos se dañan seriamente con manchas negras prominentes, siendo muy difícil de controlar (Weir et al., 2012; Ramírez, et al., 2023).

Figura 1. Signos de antracnosis ocasionados por *Colletotrichum* spp, en diversos cultivos.



Nota: La figura fue tomada del artículo “*Situación actual de Colletotrichum spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control*”. Rojo -Báez et al., 2017. A) *Colletotrichum* sp. en hojas de limón mexicano; B) *C. circinans* en cebolla (Tomado de Montes-Belmont et al., 2023); C) *C. gloeosporioides* en litchi (Tomado de Martínez- Bolaños et al., 2015); D) y E) *C. truncatum* y *C. gloeosporioides* en papaya; F) *C. gloeosporioides* en mango.

El género de *Colletotrichum* spp., incluye más de 100 especies responsables de antracnosis en diversos cultivos. Debido a la importancia económica de los cultivos que son afectados por este hongo, las especies de *Colletotrichum* spp., ocupan un lugar significativo en la clasificación mundial de patógenos de plantas (Ciofini, et al., 2022).

Se ha demostrado que la antracnosis puede tener un impacto negativo en diversos cultivos en pre y poscosecha. Genera una reducción en la calidad y cantidad provocando la pérdida total de la cosecha (Da Silva et al., 2020).

El desarrollo de la antracnosis se puede presentar cuando existe una humedad relativa alta, temperaturas que pueda ir entre los 26 ° y 32 °C, vientos fuertes, alta intensidad luminosa entre otros factores (Campo 2011; Moreira et al., 2021).

La antracnosis presenta diferentes signos en los cultivos, entre los cuales se pueden observar lesiones que van de un color café tenue hasta un color oscuro regular o irregular, circulares, coalescentes o no coalescentes, con halos cloróticos, necrosis extensiva en hojas y posteriormente muerte regresiva del tallo (Abang et al., 2003; Amusa, et al., 2003).

Existen algunos productos naturales de plantas que ofrecen un conjunto de agentes antifúngicos que podrían representar una alternativa a los fungicidas sintéticos para el control de hongos fitopatógenos (Weria, et al., 2022; Phala, et al., 2023). Estos compuestos son selectivamente activos frente a distintas especies fúngicas, biodegradables y potencialmente adecuados para ser usados como biocidas en programas integrados de control de enfermedades fúngicas (Suteu, et al., 2020).

TEORÍA

Los estudios realizados para el control de esta enfermedad fúngica (antracnosis), se utiliza principalmente fungicidas químicos sintéticos en la mayoría de los cultivos. Sin embargo, este tipo de control puede tener efectos negativos en el medio ambiente y la salud de los organismos que lo consumen (Sijian, et al., 2023). Sin embargo, el uso excesivo de fungicidas puede provocar resistencia a patógenos. Además, no todos los países importadores aprueban actualmente el uso de fungicidas sintéticos poscosecha (Akem 2006; Shi et al., 2012).

Dentro de las alternativas que se han buscado para resolver los problemas generados por los fungicidas sintéticos, se han buscado técnicas alternativas naturales. Los fungicidas botánicos son uno de estos métodos y pueden ser una alternativa viable y sostenible a los fungicidas sintéticos. Diversos estudios han demostrado que los fitoquímicos pueden tener un efecto fungicida y se pueden utilizar como una alternativa para minimizar los impactos negativos generados por los productos sintéticos en el área agrícola (Ebisa y Tamiru, 2023).

Se ha reportado en diversos estudios que los fitoquímicos considerados como metabolitos secundarios (terpenos, esteroides, antocianinas, antraquinonas, fenoles, alcaloides, etc.), pueden ser una fuente de compuestos activos contra hongos fitopatógenos (Jugreet et al., 2020; Weria, et al., 2022; Phala, et al., 2023). Además, estos metabolitos han sido catalogadas como sustancias que no son nocivas para la salud, además de tener un menor impacto negativo en el medio ambiente y que, son fácilmente biodegradables comparados con los fungicidas sintéticos (Suteu, et al., 2020).

Por otra parte, se ha observado un creciente deseo de los consumidores por productos comerciales ecológicos más sostenibles. Esto ha alimentado el interés en el uso de los aceites esenciales (AEs) como aditivos funcionales contra hongos patógenos. Por ejemplo, se ha observado que el AE de menta aumentó considerablemente el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio en hongos patógenos como el del género *Colletotrichum* spp (Weria, et al., 2022).

La definición del AE es reconocido al “conjunto de productos volátiles que se obtienen de materiales naturales por hidrodestilación o destilación por corriente de vapor o, si se trata de frutos de cítricos, por un proceso mecánico de extrusión, con un proceso posterior de separación de la fase acuosa” (ISO 9235: 2013). Estas mezclas complejas de los AEs son extraídas principalmente de las plantas, específicamente de las células glandulares (Alonso, et al., 2021). Los AEs pueden ser obtenidos a

partir de diferentes partes de las plantas como pueden ser: flores, yemas, semillas, hojas, ramas, cortezas, madera, frutos y raíces (Torrenegra, et al., 2019; Peralta, et al., 2023).

Por ejemplo el AE de eucalipto se extrae de la planta de eucalipto el cual es considerado un género de árboles y arbustos en flor, que se originó en Australia y actualmente incluye más de 700 especies, en su mayoría nativas de Australia (Rabia et al., 2023). Las especies de eucalipto son atractivas por su rápido crecimiento, produciendo grandes cantidades de madera, pero también por su capacidad para drenar pantanos (Elangovan y Mudgil, 2023). Existen diferentes estudios que han demostrado que el AE de eucalipto tienen propiedades antimicrobianas, así como, el eucaliptol (1,8-cineole) que es uno de los componentes predominantes en la composición del AE de *Eucalyptus globulus*, ha demostrado tener un alto potencial fungicida (Amaya y Sandoval, 2020).



Nota: imagen tomada de Conjunto Lar de México, 2021.

Se ha reportado que los AEs de eucalipto posee una elevada toxicidad contra una amplia gama de hongos, tanto patógenos en campo como en postcosecha reduciendo el crecimiento del micelio e inhibiendo la producción y germinación de esporas de hongos fitopatógenos (Daizy, et al., 2008). Derivado de lo anterior, en el presente estudio tiene como objetivo evaluar *in vitro* el efecto fungicida del AE de eucalipto en *Colletotrichum* spp.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción del AE de eucalipto.

El material vegetal de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), se seleccionó a partir de árboles maduros y saludables. Se consideraron el diámetro del árbol (3 metros) y altura (50 metros) en el estado de Tlaxcala. El material vegetal se pasó por un proceso de secado a la sombra por 5 días a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó un proceso de lavado de las hojas de eucalipto recortadas en 2 cm aproximadamente con agua potable por 5 minutos. El material vegetal lavado y recortado se pasó al proceso de extracción con un equipo de hidrodestilación de inox marca Chuyuan.

El AE de eucalipto se caracterizó por la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con analizador de masas híbrido de cuadrupolo-tiempo de vuelo (GC-QTOF-MS). La identificación de los compuestos mayoritarios se realizó con la base de datos de referencia NIST y también se revisaron bibliográficamente los índices de retención de los compuestos para fortalecer la identificación.

Evaluación antifúngica de *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro*.

La cepa de *C. gloeosporioides*, fue tomada de una colección de hongos fitopatógenos, que pertenece al CIBA-IPN. La técnica que utilizaron fue por secuenciación didesoxinucleótidos marcados y se utilizaron los secuenciadores modelo 3500 y 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Los resultados de la secuenciación se analizaron con la base de datos BLAST perteneciente al NCBI (Centro Nacional para la Información).

La evaluación antifúngica se realizó por la técnica de envenenamiento del medio de cultivo, utilizando diferentes concentraciones del AE de eucalipto en medio de cultivo Agar Dextrosa Papa (PDA). Las concentraciones de los AEs fueron 100, 500, 750, 1000, 1250, 1500 y 1750 µl/L, mezcladas con dimetil sulfoxido (DMSO) al 10% todo con sus 5 replicas respectivamente. Se midió el área de inhibición y se analizó a través de un análisis estadístico (ANOVA).

Inhibición de la germinación de conidios.

Para la prueba de germinación se realizó en medio de cultivo caldo papa-dextrosa (CPD) a pH 6 estéril, inoculado con una concentración de 1×10^7 esporas/mL de *C. gloeosporioides*, con agitación de 60 rpm en cámara de incubación a 26 °C por 24 hrs en oscuridad. Se tomó una muestra cada 12 y 24 hrs, y se cuantificó las esporas germinadas y no germinadas en cámara Neubauer.

Para el grupo experimental AE de eucalipto, se preparó medio de cultivo caldo papa-dextrosa (CPD) a pH 6 estéril, inoculado con una concentración de 1×10^7 esporas/mL de *C. gloeosporioides*, adicionado el AE de eucalipto con la concentración mínima inhibitoria CMI 50 y CMI 80 en DMSO al 10 %. Se dejó con agitación de 60 rpm en cámara de incubación a 26 °C por 24 hrs en oscuridad.

Se tomó una alícuota cada 12 y 24 hrs y se cuantificó las esporas germinadas y no germinadas en una cámara Neubauer, se analizó a través de un análisis estadístico (ANOVA).

RESULTADOS

En el presente estudio los resultados obtenidos en el proceso de extracción y caracterización del AE de eucalipto por cromatografía se identificaron 7 componentes mayoritarios, extraído con la técnica de hidrodestilación. En la tabla 1, se observa de manera detallada la información de la caracterización del AE de eucalipto y, en la figura 1 se puede observar el cromatograma de los componentes químicos del AE de eucalipto.

Tabla 1. Composición química del AE de eucalipto

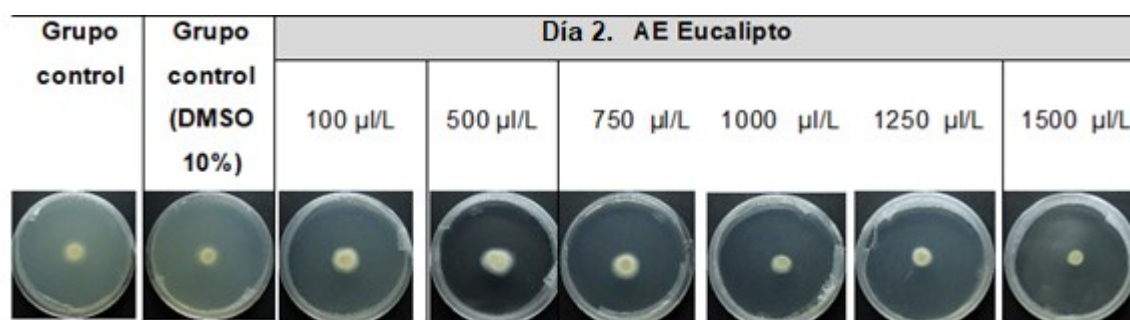
Pico	tR (min)	Compuesto	Fórmula	Área	Area %
1	9.60	α -felandreno	$C_{10}H_{16}$	781914.4 ± 0.56	10%
2	11.60	3-careno	$C_{10}H_{16}$	360812.67 ± 1.1	5%
3	13.10	m-cimeno	$C_{10}H_{14}$	103457.79 ± 0.6	1%
4	14.10	p-cimeno	$C_{10}H_{14}$	837936.25 ± 0.5	11%
5	14.30	D-limoneno	$C_{10}H_{16}$	441647.89 ± 1.1	6%
6	14.45	Eucaliptol	$C_{10}H_{18}O$	4024805.79 ± 1.7	51%
7	16.03	γ -terpineno	$C_{10}H_{16}$	1287948.78 ± 0.57	16%

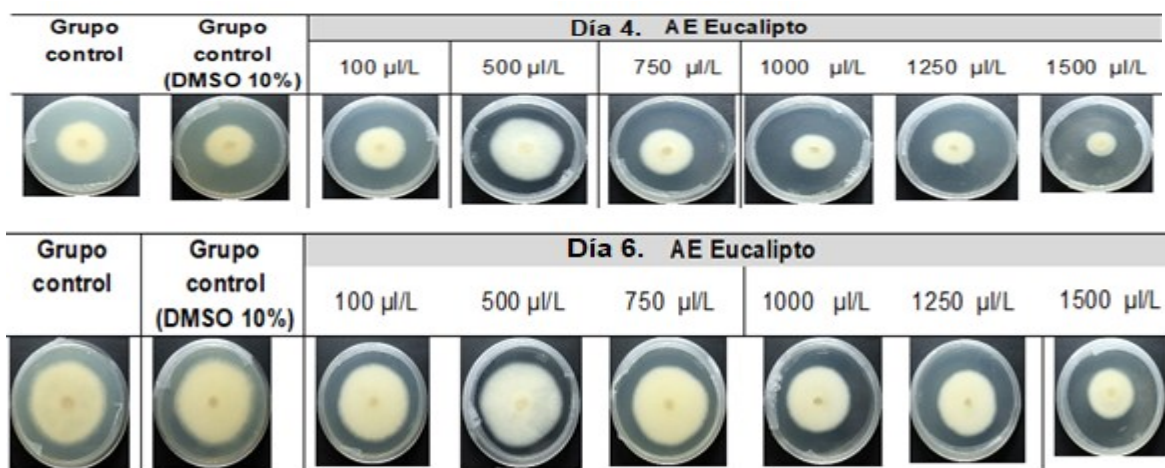
Nota: tR=tiempo de retención. Los datos se expresan como media $\pm$ SD (n=3)

Los principales componentes químicos fueron eucaliptol (51%), γ -terpineno (16%), p-cimeno (11%), α -felandreno (10%), d-limoneno (6%), 3-careno (5%) y m-cimeno (1%). La mayoría de los componentes presentes en el AE de eucalipto son monoterpenos y, solo un monoterpeno oxigenado (eucaliptol).

Los resultados de obtenidos en el proceso de evaluación antifúngica con las concentraciones del AE de eucalipto, se observó que existe actividad antifúngica sobre el crecimiento de *C. gloeosporioides* con una CMI 50 (1380 μ L/L) y CMI 80 (1750 μ L/L). Las evaluaciones mostraron que el AE de eucalipto solo inhibe el crecimiento de hongo de manera efectiva hasta en un 80 %, esto se puede observar en la figura 2.

Figura 2. Efecto del AE de eucalipto sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* con diferentes concentraciones.





Se hallaron diferencias estadísticas significativas (p -valor $<0,05$) (tabla 2) entre las concentraciones del AE de eucalipto en el día 6, con efecto inhibitorio de *C. gloeosporioides* en un 50 % con una concentración de 1380 $\mu\text{L/L}$ y en un 80 % de inhibición con una concentración de 1750 $\mu\text{L/L}$ (gráfico 1).

Gráfico 1. Porcentaje de inhibición del AE de eucalipto en el día 6

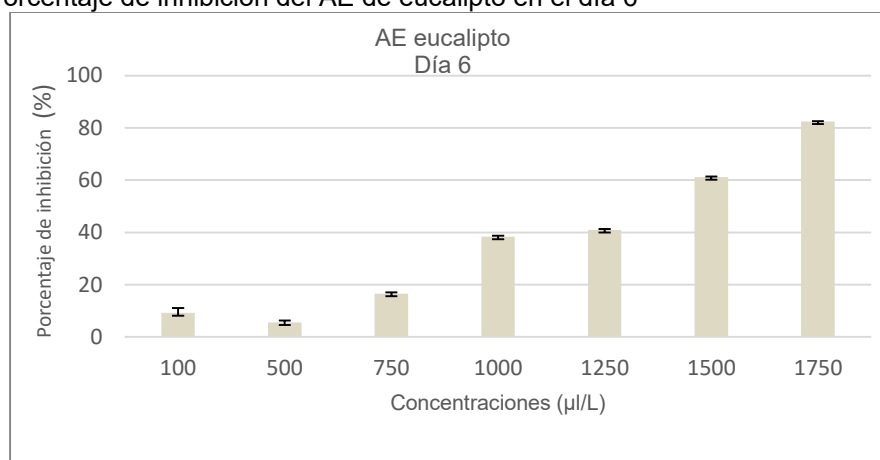


Tabla 2. Análisis de Varianza para porcentaje de índice antifúngico en el día 6.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	6	24216.9	4036.16	5753.91	0.000
Error	28	19.6	0.70		
Total	34	24236.6			

Los resultados observados en la inhibición de la germinación de conidios, se mostró que existe el 80 % inhibición con el AE de eucalipto a partir de la concentración de 1250, 1500 y 1750 $\mu\text{L/L}$ a las 24 hrs de incubación (grafico 2).

Estadísticamente se observan diferencias significativas entre las concentraciones utilizada como se puede observar en la tabla 3.

Grafico 2. Porcentaje de inhibición de la germinación de conidios (24 hrs de incubación).

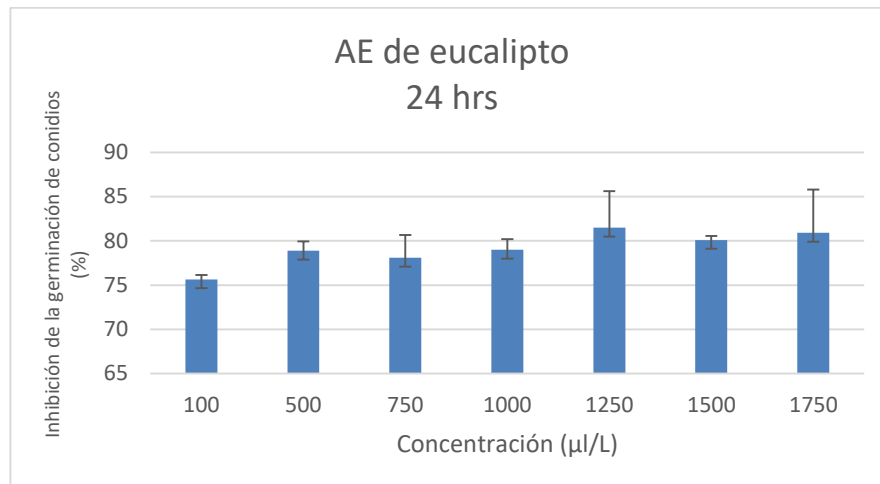


Tabla 3. Análisis de Varianza para el porcentaje de inhibición de la germinación de conidios (24 hrs).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	8	7.70424E+11	96302953704	1.59	0.198
Error	18	1.09221E+12	60678222222		
Total	26	1.86263E+12			

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio nos indican que el AE de eucalipto puede inhibir el crecimiento de *C. gloeosporioides* hasta en un 80 %, por lo que, el AE de eucalipto puede ser utilizado para el control de la antracnosis. Además, podría ser una alternativa a los fungicidas químicos sintéticos que se aplican en la industria agrícola. Sin embargo, aún se necesitan más estudios para un análisis costo-beneficio para confirmar la viabilidad sobre el uso de los AEs en esta área.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abang, M., Winter, S., Mignouna, H., Green, K. and Asiedu, R. 2003. Molecular taxonomic, epidemiological and population genetic approaches to understanding yam anthracnose disease. *African Journal of Biotechnology* 2:486-496.
2. Akem, CN (2006). Enfermedad de antracnosis del mango: estado actual y futuras prioridades de investigación.
3. Alonso-Gato, M., Astray, G., Mejuto, J. C., Simal-Gandara, J. (2021). Essential oils as antimicrobials in crop protection. *Antibiotics*, 10(1), 34.
4. Amaya Sánchez, P. A., & Sandoval Jaime, J. J. (2020). *Evaluación de la obtención y uso del aceite esencial de eucalipto (eucalyptus globulus) como fungicida* (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).
5. Amusa, N., Adegbite, A., Muhammed, S. and Baiyewu, R. 2003. Yam diseases and its management in Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 2, 497-502.
6. Campo R. 2011. Manejo integrado de la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en ñame (*Dioscorea alata*) mediante el uso de alternativas para reducir el inóculo primario, la dispersión y el establecimiento del patógeno. informe final de proyecto. Universidad de Córdoba, Co.
7. Campo-Arana, R. O., & Royet-Barroso, J. D. J. (2020). La antracnosis del ñame y estrategias de manejo: una revisión. *Temas Agrarios*, 25(2), 190-201.
8. Ciofini, A.; Negrini, F.; Baroncelli, R.; Baraldi, E. (2022). Management of Post-Harvest Anthracnose: Current Approaches and Future Perspectives. *Plants* 11, 1856.
9. Da Silva, P. P. M., de Oliveira, J., dos Mares Biazotto, A., Parisi, M. M., da Glória, E. M., & Spoto, M. H. F. (2020). Essential oils from *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex Bailey and

- Eucalyptus urograndis W. Hill ex Maiden associated to carboxymethylcellulose coating for the control of Botrytis cinerea Pers. Fr. and Rhizopus stolonifer (Ehrenb.: Fr.) Vuill. in strawberries. *Industrial Crops and Products*, 156, 112884.
10. Daizy R. Batish, Harminder Pal Singh, Ravinder Kumar Kohli, Shalinder Kaur (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide Forest Ecology and Management, Volume 256, Issue 12, Pages 2166-2174, ISSN 0378-1127, <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>.
 11. Ebisa Mirete Deresa, Tamiru Fayisa Diriba, (2023). Phytochemicals as alternative fungicides for controlling plant diseases: A comprehensive review of their efficacy, commercial representatives, advantages, challenges for adoption, and possible solutions, Heliyon, Volume 9, Issue 3, e13810, ISSN 2405-8440.
 12. Elangovan, S., & Mudgil, P. (2023). Antibacterial properties of Eucalyptus globulus essential oil against MRSA: A systematic review. *Antibiotics*, 12(3), 474.
 13. ISO 9235. *Materias primas naturales aromáticas—vocabulario*; Organización Internacional de Normalización: Ginebra, Suiza, 2013
 14. Jugreet BS, Suroowan S., Rengasamy RRRK, Mahomoodally MF. (2020). Química, bioactividades, modo de acción y aplicaciones industriales de los aceites esenciales Tendencias Ciencias de la alimentación. *Tecnología*, 101, págs. 89 – 106.
 15. Moreira R., Zielinski, E., Castellar, C., Bergamin, A. and De Mio, L. 2021. Study of infection process of five species of Colletotrichum comparing symptoms of glomerella leaf spot and bitter rot in two apple cultivars. *European Journal of Plant Pathology*, 159(1): 37-53.
 16. Peralta-Ruiz, Y., Rossi, C., Grande-Tovar, C. D., & Chaves-López, C. (2023). Green Management of Postharvest Anthracnose Caused by Colletotrichum gloeosporioides. *Journal of Fungi*, 9(6), 623.
 17. Phala Katlego, Mapossa Antonio B., Augustyn Wilma Combrinck, Sandra, Botha Ben, (2023). Development of EVA and LLDPE polymer-based carvone and spearmint essential oil release systems for citrus postharvest diseases applications, *Arabian Journal of Chemistry*, Volume 16, Issue 2, 104458, ISSN 1878-5352.
 18. Rabia Shabir Ahmad, Muhammad Imran, Muhammad Haseeb Ahmad, Muhammad Kamran Khan, Adeela Yasmin, Hafiza Saima, Khadija Abbas, Rabbiya Chaudhary, Muhammad Abdul Rahim (2023). Chapter 9 - Eucalyptus essential oils, Editor(s): Gulzar Ahmad Nayik, Mohammad Javed Ansari, *Essential Oils*, Academic Press, Pages 217-239, ISBN 9780323917407.
 19. Rojo-Báez, Indira, Álvarez-Rodríguez, Brando, García-Estrada, Raymundo S., León-Félix, Josefina, Sañudo-Barajas, Adriana, & Allende-Molar, Raúl. (2017). Situación actual de Colletotrichums spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3), 549-570
 20. Shi, X., Li, B., Qin, G. y Tian, S. (2012). Mecanismo de acción antifúngica del borato contra Colletotrichum gloeosporioides relacionado con la degradación mitocondrial en esporas. *Biología y tecnología poscosecha*, 67, 138-143.
 21. Suteu D., Rusu L, Zaharia C., Badeanu M., Daraban G.M. (2020). Challenge of utilization vegetal extracts as natural plant protection products *Appl. Sci.*, 10 (24) pp. 1-21, 10.3390/app10248913
 22. Torrenegra Alarcón, M., Granados Conde, C., y León Mendez, G. (2019). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de Eucalyptus globulus Labill. *Revista Cubana de Farmacia*, 52(1). Recuperado de <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/266>
 23. Weria Weisany, Saadi Samadi, Nawroz Abdul-razzak Tahir, Jahanshir Amini, Somaieh Hossaini (2022). Nano-encapsulated with mesoporous silica enhanced the antifungal activity of essential oil against Botrytis cinerea (Helotiales; Sclerotiniaceae) and Colletotrichum nymphaeae (Glomerellales; Glomerellaceae), *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Volume 122, 101902, ISSN 0885-5765.

HARINA DE GUAYABA A PARTIR DE RESIDUOS DE LA INDUSTRIA DE DULCES

Francisco Javier Jiménez Rodríguez, Paola Lizeth García Hernández, Christian Iván Gómez Gómez, Consuelo de Jesús Cortes Penagos, Berenice Yahuaca Juárez.

Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán. México.

consuelo.cortes@umich.mx

RESUMEN

El procesamiento agroindustrial del fruto de guayaba, genera un residuo, la semilla, que se desecha; el aprovechamiento de estas semillas, permitirá disminuir la contaminación por este desecho orgánico y proponer un subproducto de aplicación en la industria alimentaria (Athayde, A.M. y col., 2014; Kapoor, S. y col., 2020). La elaboración de harina de semillas-residuo de guayaba es una alternativa para utilizarla en alimentación humana o animal; para lo cual, se hace necesario, proponer una metodología de obtención de harina y el conocimiento de sus propiedades fisicoquímicas, bromatológicas y tecno-funcionales. Michoacán, principal productor nacional de guayaba (*Psidium guajava* L), una fruta cuyo consumo es principalmente en fresco, además se elaboran productos artesanales, como dulces y jugos. El material de estudio para este trabajo fué semillas de guayaba, residuo de una empresa moreliana que obtiene pulpa de frutas para elaboración de dulces regionales, las semillas se desechan una vez que se cose la fruta y se separa del resto del fruto; en el laboratorio, las semillas se sometieron a deshidratación por flujo de aire caliente, a 70°C, molienda y tamizado hasta un tamaño de partícula de 0.4 mm, obteniendo la harina correspondiente. Las semillas-residuo, se evaluaron en sus contenidos de: proteína 5.28%, humedad 29.73%, cenizas 0.77%, grasa 2.78%. Así mismo, se determinó la composición de la harina obtenida del residuo: proteína 8.88%, humedad 5.55%, cenizas 1.50 %, grasa 18.85%, fibra cruda 64.49%, absorción de agua 3.65 g de gel/g de muestra, absorción de aceite 3.12 g/g de muestra y un rendimiento en base seca del 60%. Estos resultados, permiten concluir la factibilidad de la elaboración de harina de residuo de guayaba, con un alto contenido de fibra, proteína y grasa, para su posible utilización en industria alimentaria para consumo humano y/o veterinario. Los resultados de absorción de agua y aceite de la harina de semillas de guayaba, y otros parámetros tecnofuncionales de la misma, podrán dar luz para determinar formulaciones de un producto alimenticio que aproveche la composición de esta harina.

INTRODUCCIÓN

El uso de la fruta para el procesamiento agroindustrial tiene un sobrante de la producción, compuesto principalmente de semillas, mismo, que se desecha. Así, su aprovechamiento, resulta una alternativa que aborda varios problemas: disminuir contaminación por este desecho orgánico, proponer un subproducto de aplicación en la misma industria alimentaria. La elaboración de harina de residuos de guayaba resulta interesante, una vez que se evalúen sus características fisicoquímicas y bromatológicas de este producto.

Parte de la dieta habitual del mexicano está referida al consumo de alimentos a base de trigo, la harina de trigo es deficiente en aminoácidos esenciales particularmente lisina y triptófano y es baja en fibra debido al proceso de refinación al que se enfrenta (Trejo Rodríguez I. S. y col. 2018). Una alternativa a la harina de trigo y con un valor nutricional importante son los desechos de la agroindustria del fruto de guayaba, altos en proteínas, antioxidantes, carbohidratos complejos, fibra dietaria, adecuado balance en minerales y son bajos en grasa y calorías (Silva-Vega M. y col. 2017). Su contenido en proteínas representa una oportunidad de mejora alimenticia formando parte fundamental de la seguridad alimentaria, demostrando adicionalmente tener un efecto protector ante enfermedades crónico-degenerativas: cardiovasculares, obesidad, diabetes y cáncer.

Los residuos generados durante el procesamiento de la guayaba, principalmente las semillas, contienen nutrientes valiosos como fibra y proteína que se pueden aprovechar. Estos residuos

pueden ser deshidratados y molidos para producir harina de guayaba, que puede tener diversos usos en la industria alimentaria.

Las harinas se obtienen directamente de la molienda de los desechos de la fruta de guayaba, una vez que se obtiene el producto primario de la industria, finalmente se deshidratan y se muelen obteniéndose un pulverizado. Las propiedades tecno-funcionales de las harinas dependen particularmente de la modificación que sufren tanto el almidón como las proteínas durante la cocción y molienda de fruta, estas propiedades tecno-funcionales pueden ser categorizadas con base en su interacción con el agua, interacciones intermoleculares y su capacidad para interactuar con moléculas no-polares (Luzardo-Ocampo I. y col. 2022) y se refleja en parámetros como la densidad aparente, la capacidad de absorción de agua y la capacidad de solubilidad en agua, entre algunos otros parámetros (Torres González y col., 2016), de ello dependerán sustancialmente las características que tengan las harinas para funcionar como tales (textura, rendimiento, humectación, etc.) desarrollan al ser transformadas a harinas como una alternativa para generar nuevos productos alimenticios. El secado de este residuo pierde su contenido de humedad, dando como resultado el aumento en la concentración de nutrientes; las vitaminas, proteínas, carbohidratos, están presentes en mayor cantidad en los alimentos secados que en los frescos. Una alternativa de uso alimentario es como harina, que puede incorporarse a formulaciones existentes en combinación con otras harinas o bien para desarrollar nuevos productos (tortillas, panes, galletas, pastas, entre otros). El uso de las harinas dependerá de sus propiedades funcionales, las cuales están dadas por el almidón y las proteínas, incidiendo en factores como solubilidad, capacidad de absorción de agua, poder de hinchamiento.

PARTE EXPERIMENTAL

Material de estudio

Semillas de guayaba residuo: Una de las industrias que procesan frutas para obtención de pulpa y elaborar dulces regionales principalmente, proporcionó las semillas obtenidas de una fábrica que elabora dulces de frutos, incluida la guayaba, el procedimiento es someter a la fruta completa a cocción, seguido de separación de la pulpa de las semillas, éstas se desechan (Fig. 1), se recolectaron y se llevaron al laboratorio de Biotecnología, Facultad de Químico-Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Morelia, Michoacán. Donde se almacenaron al vacío para su conservación, antes de someterse a deshidratación por flujo de aire caliente, a 70°C durante 6 horas (Fig.2), molienda y tamizado hasta un tamaño de partícula de 0.4 mm, obteniendo la harina correspondiente (Fig. 3, 4 y 5). Las determinaciones para las semillas residuo y la harina obtenida, fueron: Humedad, Método oficial 934.01 de la AOAC 2000; Cenizas, Método señalado por la norma NMX-F-066-S-1978; Grasa (cruda) o extracto de éter, Método oficial de la AOAC 920.39; Fibra dietaria, Absorción de agua y aceite.



Figura 1. Semillas de guayaba, residuo del procesamiento del fruto para la obtención de pulpa.



Figura 2. Deshidratación por flujo de aire.



Figura 3. Molienda de las semillas



Figura 4. Cribado y obtención de harina.



Figura 5. Harina obtenida de semillas de guayaba, residuo de industria alimentaria

RESULTADOS

En la Tabla 1, se muestran los resultados del análisis de las semillas residuo, y de la harina obtenida a partir de ellas. El contenido proteína tanto en semilla como en la harina obtenida, en la harina de trigo, fluctúa entre 5 y 8%, mientras que el contenido de fibra, supera el 60%. Estos dos componentes mayoritarios, son importantes para el uso de la harina en algún producto para alimentación humana y/o animal. El comportamiento tecnofuncional de las harinas, puede medirse por la capacidad de absorción de agua y aceite, para la formación de masa, y características de producto final. Las propiedades tecno-funcionales en la harina tienen gran importancia debido al incremento en el uso de harinas de fuentes alternativas al trigo, por ejemplo, de semillas de guayaba, dirigidas al desarrollo de formulaciones alimentarias, asegurando la calidad en la formulación de alimentos (Martín-Cabrejas, 2008). La harina de semillas de guayaba, al ser una excelente fuente de proteínas puede ser una opción para sustituir y complementar el uso de harinas de otras fuentes.

Tabla 1. Análisis comparativo de propiedades fisicoquímicas de semillas y harinas de guayaba

Parámetro evaluado	Semilla procesada	Harina semilla procesada
% Humedad	29.73	5.55
% Cenizas	0.77	1.50
% Grasa	2.79	13.65
% Fibra cruda	---	64.49
% Proteína	5.28	8.88
% Rendimiento	No aplica	60
Absorción agua ml de agua/g de harina	No aplica	3.65
Absorción aceite	No aplica	3.13

CONCLUSIONES

El aprovechamiento de un residuo que se desecha y contamina, permite abordar un problema desde varias perspectivas, tanto ambiental, tecnológico y de innovación. Con la propuesta de una metodología que permita elaborar harina, a partir de residuos de elaboración de dulces y jugos del

fruto de guayaba, utilizando la deshidratación por flujo de aire y molienda. Esta harina, rica en contenido de grasa, proteína y fibra, puede ser utilizada en la elaboración de productos alimentos de consumo humano y/o animal, como ingrediente en la elaboración de productos horneados, como panes, galletas o pasteles, para agregar sabor y nutrientes. También puede utilizarse en la formulación de productos alimenticios enriquecidos, como barras de cereal o productos de desayuno. El proceso de aprovechamiento de residuos no solo reduce el desperdicio de alimentos, sino que también puede generar ingresos adicionales para las empresas de la industria de dulces al crear un nuevo producto comercializable a partir de sus subproductos. Además, la harina de guayaba puede tener beneficios nutricionales debido a su contenido de fibra, antioxidantes y otras vitaminas y minerales presentes en la fruta.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ana Maria Athayde, Eldina Castro Sousa, José Osvaldo Beserra Carioca, Selene Maia de Moraes, Alessandro de Lima, Clécio Galvão Martins, Cristiane Duarte Alexandrino, Pablito Augusto Travassos Ferreira, Ana Livya Moreira Rodrigues, Suliane Praciano Rodrigues, José Celso de Albuquerque Thomaz, Jurandy do Nascimento Silva, Larissa Lages Rodrigues. (2014) Chemical composition, fatty acid profile and bioactive compounds of guava seeds (*Psidium guajava* L.). *Food Sci. Technol*, Campinas, 34(3): 485-492, <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6339>
2. Kapoor, S., Gandhi, N., Tyagi, S., Kaur, A., & Mahajan, B. V. C. (2020). Extraction and characterization of guava seed oil: a novel industrial byproduct. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 132, 109882. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109882>
3. Luzardo-Ocampo Ivan, Ramírez-Jiménez Aurea K., Cabrera-Ramírez Angel H., Rodríguez-Castillo N., Campos-Vega Rocio, Loarca-Piña Guadalupe, Gaytán-Martínez Marcela. Impacto of cooking and nixtamalization on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds from two sorghum varieties. *Food Chemistry*, Vol. 309, 30 March 2020, 125684.
4. Martín-Cabrejas, M.A., Díaz, M.F., Aguilera, Y., Benítez, V. Mollá, E. & Esteban, R.M. (2008). Influence of germination on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in non-conventional legumes. *Food Chemistry*, 107(3), 1045-1052.
5. Silva-Vega Mónica, Bañuelos-Valenzuela Rómulo, Muro-Reyes Alberto, Esparza-Ibarra Edgar y Delgadillo-Ruiz Lucía. (2017) Evaluación de semilla de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa en la nutrición ruminal. *Abanico Veterinario* ISSN 2448-6132 Editorial Sergio Martínez González sisupe.org/revistasabanico, <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2017.71.2>
6. Torres González J.D., González Morelo K.J., Acevedo Correa D., Jaimes Morales J.D.C, (2016). Efecto de la utilización de harinas de *Lens culinaris* como extensor en las características físicas y aceptabilidad de una salchicha. *Revista Tecnura*, 20 (48), 15-28. DOI:10.14483/udistrital.jor.tecnura.2016.3.A01
7. Trejo Rodríguez Ibna Suli, Méndez Tello Graciela, Algara Suárez Paola, Ruiz Cabrera Miguel Ángel, González García Raúl, Grajales Lagunes Alicia. Obtención de harina a partir de semillas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus*): caracterización química y evaluación de sus propiedades funcionales. *Memorias del XXXIX Encuentro Nacional de la AMIDIQ* 1 al 4 de mayo 2018, San José del Cabo, BCS. © Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química ISBN 978-607-95593-6-6

EVALUACIÓN DE DIFERENTES PARÁMETROS DURANTE EL DESEMPEÑO DE UN BIODIGESTOR DE GEOMEMBRANA TUBULAR ALIMENTADO CON ESTIÉRCOL VACUNO

Sarai Camarena Martínez¹, Juan Humberto Martínez Martínez², Lizbeth Viridiana Delgado Galván¹, Graciela M. L. Ruiz Aguilar¹, Víctor Olalde Portugal³

¹Institución de adscripción A, ²Institución de adscripción B. ¹Universidad de Guanajuato, ²Instituto Tecnológico Superior de Abasolo, ³CINVESTAV Unidad Irapuato
s.camarena@ugto.mx

RESUMEN

El empleo de estiércol vacuno para la producción de biogás representa una práctica en crecimiento dentro del ámbito de la producción de energía renovable y la gestión sostenible de los residuos. No obstante, se ha observado que las altas inversiones limitaban la implementación de reactores en zonas rurales. Nuestro equipo de investigación propuso el uso de biodigestores de bajo costo, como los de geomembrana de PVC, para mejorar las condiciones de vida en estas áreas. Aunque se han instalado exitosamente biodigestores similares en Guanajuato, hay pocos estudios sobre la fluctuación de parámetros físicos y químicos durante su operación. El objetivo principal fue entender cómo afectan estos parámetros a la producción de biogás de un biodigestor tubular de geomembrana para establecer medidas de mejora del proceso. El trabajo experimental consistió en el monitoreo de la conductividad, pH, temperatura, contenido de sólidos, demanda química de oxígeno (DQO), carbohidratos, carbono y alcalinidad en cuatro puntos (entrada, punto intermedio 1, punto intermedio 2 y salida) del biodigestor durante un periodo de 30 días. Este reactor tiene una capacidad de 10,000 L y opera a temperatura ambiente (8.3-34.3 °C) en régimen semicontinuo al ser alimentado tres veces por semana con una mezcla de estiércol vacuno y agua (5.2-16.5 g ST/L, pH 7.2-10.0). Los valores de DQO, contenido de sólidos y alcalinidad fueron fluctuando a lo largo del periodo de evaluación. Por otra parte, se registró un incremento del pH y una disminución de la conductividad. En cambio, la concentración de carbohidratos y porcentaje de carbono permaneció constante y la medición de temperatura interna del biodigestor permaneció relativamente estable (26.0 - 30.0°C). La calidad de biogás fue aceptable (64.5 ± 2.9 %) a pesar de que no se manejó ninguna co-digestión ni se empleó algún tipo de pretratamiento físico, químico y/o biológico como se observa comúnmente en las investigaciones revisadas. Es importante destacar que este estudio se llevó a cabo utilizando un biodigestor de mayor capacidad en comparación con otros estudios y se logró mantener un buen desempeño del biodigestor. Estos resultados sugieren que los biodigestores tubulares de geomembrana podrían ser una opción viable para la producción de biogás en zonas rurales utilizando únicamente estiércol vacuno, sin la necesidad de mezclar con otros sustratos o implementar algún tipo de pretratamiento.

INTRODUCCIÓN

México presenta un prometedor potencial para la producción de energía eléctrica a partir de fuentes renovables, situándose en el décimo lugar entre los Países Líderes en Nuevas Inversiones, según Bloomberg New Energy Finance (2017). La Ley de Transición Energética (LTE) de 2008 estableció metas ambiciosas, como alcanzar un mínimo del 25% de energías limpias en la generación eléctrica para 2018, del 30% para 2021 y del 35% para 2024. Aunque en 2021 el 29.5% de la energía provino de fuentes limpias, el país continúa dependiendo en gran medida de los hidrocarburos, según datos de SENER (2022) y AIE (2013).

Una problemática ambiental en el país es la generación de residuos provenientes de actividades ganaderas, agropecuarias e industriales. Con frecuencia, estos residuos son quemados o arrojados a vertederos, ríos y quebradas, sin considerar su lenta degradación, lo que contribuye a la contaminación ambiental (Sarmiento, 2011).

Para abordar esta situación, el desarrollo de nuevas tecnologías que aprovechan estos residuos en la producción de biocombustibles emerge como una solución prometedora. Una de estas tecnologías

es la digestión anaerobia (DA), que descompone los residuos mediante la acción microbiana para producir biogás. Este biogás, rico en energía química, puede ser utilizado para calefacción o para generar electricidad mediante generadores y turbinas. De esta manera, se puede dar un tratamiento adecuado a los residuos agroindustriales y utilizar el biogás resultante como fuente de energía, contribuyendo así a una gestión más sostenible de los recursos y a la reducción del impacto ambiental.

En particular, el empleo de estiércol vacuno para alimentar un biodigestor representa una práctica en crecimiento dentro del ámbito de la producción de energía renovable y la gestión sostenible de los residuos. La utilización del estiércol vacuno en biodigestores no solo contribuye a la producción de energía limpia, sino que también ofrece beneficios adicionales para la agricultura. La aplicación del digestato resultante como fertilizante orgánico puede mejorar la calidad del suelo y reducir la dependencia de fertilizantes químicos, promoviendo así prácticas agrícolas más sostenibles. Además, el empleo de biodigestores para tratar el estiércol vacuno ayuda a mitigar problemas ambientales asociados con su disposición, como la contaminación del agua y la emisión de gases de efecto invernadero (Tauseef, 2013).

Es importante mencionar que la mayoría de las investigaciones que reportan el comportamiento de diversos parámetros fisicoquímicos durante el proceso de DA se basan en el empleo de biodigestores a escala de laboratorio. El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar diferentes parámetros físicos y químicos en un biodigestor geomembrana tubular con una capacidad de 10,000 L, alimentado con estiércol vacuno, con el fin de identificar posibles mejoras para optimizar la producción de biogás, y evaluar su viabilidad para uso en zonas rurales.

TEORÍA

El biogás procede de fenómenos naturales que se desencadenan sin intervención humana. El biogás se genera a través de un proceso denominado digestión anaerobia (DA). Su denominación proviene de la degradación de materia orgánica en ausencia de oxígeno facilitado por microorganismos (Wellinger et al., 2013). La composición principal del biogás comprende metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), junto con trazas de otros gases. Si el contenido de metano supera el 45%, el biogás se vuelve inflamable (Deublein y Steinhauser, 2008).

La conversión de materia orgánica compleja en CH_4 y CO_2 a través de la DA requiere la ejecución de cuatro etapas principales: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. La hidrólisis es llevada a cabo por microorganismos facultativos que emplean enzimas extracelulares (celulasas, amilasas, proteasas o lipasas) para degradar materia orgánica compleja (carbohidratos, proteínas y lípidos) a compuestos solubles como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, que puedan atravesar la membrana celular (Parawira et al., 2005; Deublein y Steinhauser, 2008). En la acidogénesis, las moléculas orgánicas solubles son aprovechadas como sustrato por microorganismos fermentativos. La distribución de productos durante la acidogénesis comprende un 51% de acetato, un 19% de H_2/CO_2 y un 30% de productos reductores como ácidos grasos volátiles (formico, propiónico, butírico, valérico), alcoholes o lactato (Kumar et al., 2013). En la acetogénesis se transforman el etanol, ácidos grasos volátiles y algunos compuestos aromáticos en productos más simples, como acetato (CH_3COO^-) e hidrógeno (H_2), mediante la acción de bacterias acetogénicas (Schink, 1997). En la última etapa los microorganismos metanogénicos son responsables de completar el proceso de DA al convertir sustratos monocarbonados o compuestos con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente en metano.

La DA se puede llevar a cabo en reactores anaerobios ya sea a nivel laboratorio o a escala piloto e industrial. Entre las diferentes configuraciones de reactores más utilizadas se encuentran los reactores de mezcla completa (CSTR), reactores anaerobios por lotes en serie (ASBR), filtros anaerobios (AF), reactores de flujo ascendente (UASB) y los reactores de flujo pistón (PFR) (Khanal., 2008; Nasir et al., 2012). No obstante, la implementación, instalación u operación de estos sistemas en zonas rurales o agrícolas no suele llevarse a cabo debido a los altos costos requeridos. Por ello,

en esta investigación se propuso la instalación de biodigestores contruidos con geomembrana de PVC de tipo flujo pistón debido a su bajo costo y fácil manejo. La manufactura y operación de este tipo de biodigestor permite que se pueda adaptar a un sistema modular escalable. Con ello, se posibilita su uso no solo a equipos de grandes dimensiones (40% toneladas diarias), sino que también se pueden adaptar a la cantidad de residuos orgánicos que genera una familia (Camarena, 2009). Por tanto, La construcción e instalación de dicho prototipo requiere una inversión menor en comparación con los reactores industriales.

Uno de los sustratos que se puede emplear para generar biogás es el estiércol de ganado. En particular, el estiércol vacuno es una fuente abundante y fácilmente disponible en muchas áreas agrícolas. En lugar de desechar el estiércol, su utilización en biodigestores reduce la contaminación del suelo y del agua, así como las emisiones de gases de efecto invernadero. Además, el lodo digerido resultante, un subproducto del proceso de digestión, puede ser utilizado como fertilizante orgánico, mejorando la calidad del suelo y cerrando así el ciclo de nutrientes en la agricultura (Nasir et al., 2014; Li et al., 2020).

La investigación sobre la producción de biogás a partir de estiércol vacuno continúa avanzando, con un enfoque creciente en la optimización de procesos, la mejora de la calidad del biogás y la exploración de nuevas aplicaciones y mercados potenciales. Para mantener una adecuada calidad del proceso, y por ende del biogás, es importante controlar diferentes parámetros físicos como la temperatura, pH, conductividad y contenido de sólidos, así como parámetros químicos como la demanda química de oxígeno (DQO), el contenido de carbohidratos, de carbono y alcalinidad.

En el presente trabajo de investigación se estudió el comportamiento de diferentes parámetros físicos y químicos de la DA en un biodigestor de geomembrana de PVC de tipo flujo pistón empleando estiércol vacuno como sustrato para conocer de qué manera influyen en la producción de biogás y posteriormente establecer medidas que permitirán una mejora del rendimiento del proceso.

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo experimental comprendió en una serie de ensayos para el monitoreo de distintos parámetros físicos y químicos del proceso de DA en cuatro puntos diferentes del biodigestor durante un periodo de 30 días. Se determinaron los parámetros físicos de conductividad, pH, temperatura y contenido de solidos totales. Mientras que los parámetros químicos monitoreados fueron demanda química de oxígeno total, determinación de carbohidratos, carbono y alcalinidad. Además, se hizo la medición de contenido de metano del biogás.

Descripción del biodigestor

El reactor consistió en un biodigestor de geomembrana PVC tipo flujo pistón con una capacidad de 10,000 L (Figura 1). El biodigestor era alimentado con una mezcla de estiércol vacuno y agua (5.2-16.5 g ST/L, pH 7.2-10.0) y fue operado a temperatura ambiente en un rango mesofílico (8.3-34.3 °C) y en régimen semicontinuo. El biodigestor se encuentra ubicado en las instalaciones de la División Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato. La mezcla de alimentación consiste en una parte de estiércol vacuno por tres partes de agua corriente.



Figura 1. Biodigestor de geomembrana de flujo pistón en las instalaciones de la División Ciencias de la Vida de Irapuato, Gto.

Muestreo de biodigestor

Se tomaron muestras en cuatro puntos del biodigestor (Figura 2). El primer punto está situado en la mezcla de alimentación (P1). El segundo punto se ubica en el fondo lateral izquierdo del biodigestor (P2). El tercer punto se localiza en el fondo lateral derecho (P3) y el cuarto punto se ubica en el efluente (P4). Las muestras se refrigeraron a 4 °C previo a su caracterización. Las muestras de biogás se recolectaron empleando bolsas herméticas para recolección de gas.

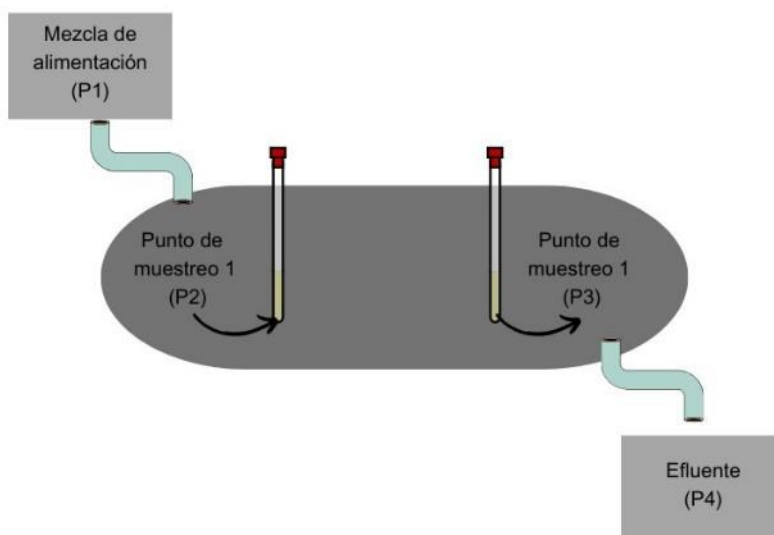


Figura 2. Esquema de puntos de muestreo.

Caracterización fisicoquímica de las muestras

La determinación de ST se realizó de acuerdo con el método estándar APHA 2540B (APHA, 2005). Para la medición de conductividad se usó un conductímetro portátil para suelos (EC-315). El pH y la temperatura de las muestras líquidas se determinaron directamente con un potenciómetro portátil marca Hanna® siguiendo las recomendaciones del proveedor. Se realizó la cuantificación de carbono orgánico en base al método de Walkley & Black (1934). La determinación de DQO se realizó de acuerdo con lo descrito en el método colorimétrico de reflujo cerrado de APHA 5220D (APHA,

2005). La medición de carbohidratos se basó en el método de ácido sulfúrico y fenol (Dubois et al., 1956). Se usó el método titulométrico para la determinar alcalinidad de acuerdo con lo descrito en APHA 2320B (APHA, 2005).

Composición de biogás

La composición de biogás se determinó mediante cromatografía de gases para la detección de H_2 , O_2 , N_2 , y CH_4 tomando 500 μL del gas presente en el "headspace" de cada botella. Para ello se usó un cromatógrafo PerkinElmer ® modelo Clarus 580, con una columna capilar Elite CG GS-MOLESIEVE 52 (30m x 0.53 mm x 50 μm) y un detector tipo TCD. Las temperaturas del inyector, horno y detector fueron 150, 50 y 200 °C respectivamente. Se utilizó argón como fase móvil a una presión de 14 psi.

RESULTADOS

En la Figura 3, se observa que la conductividad disminuyó con el transcurso del tiempo en los puntos P2, P3 y P4. Además, la conductividad en estos puntos fue similar entre sí. En el punto P1, que corresponde a las muestras recolectadas de la mezcla de alimentación, la conductividad fue menor en comparación con los otros puntos.

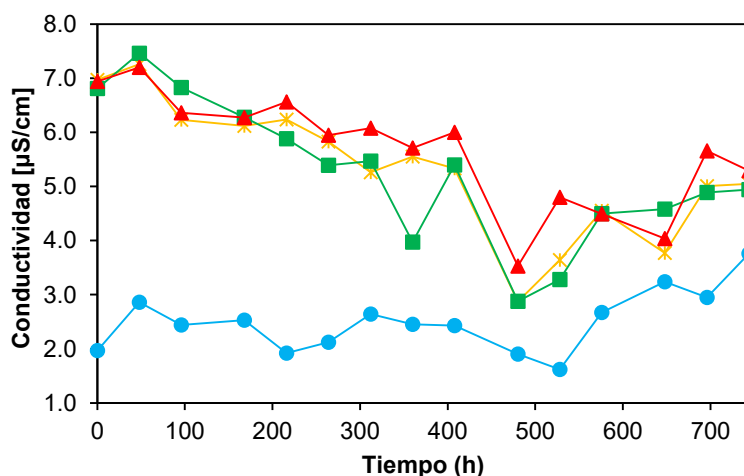


Figura 3. Conductividad ($\mu S/cm$) en el punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■) y en P4 (▲) durante un periodo de 30 días.

Como se indica en la Figura 4 los valores iniciales de pH rondaban alrededor de 6.0 y aumentaron hasta superar 9.0 en el último muestreo. Esto sugiere que durante el proceso de DA hubo una liberación de compuestos alcalinos (Chen et al., 2015).

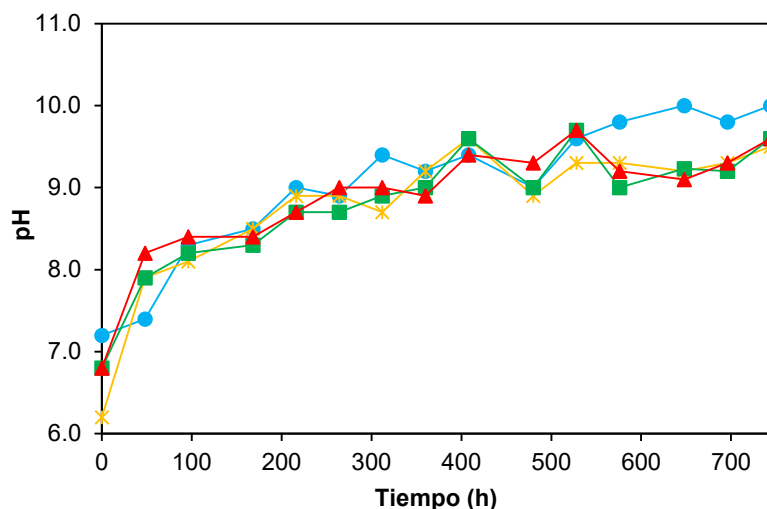


Figura 4. Valor de pH en el punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■) y en P4 (▲) durante un periodo de 30 días.

En general, el rango de temperatura en todos los puntos de muestreo se mantuvo principalmente dentro del rango mesófilo (22-32 °C) a pesar de las fluctuaciones significativas de la temperatura ambiente en la zona. Esto sugiere una buena capacidad del reactor para mantener condiciones térmicas adecuadas para los procesos biológicos que ocurren en su interior, a pesar de las variaciones externas en la temperatura ambiente (Figura 5).

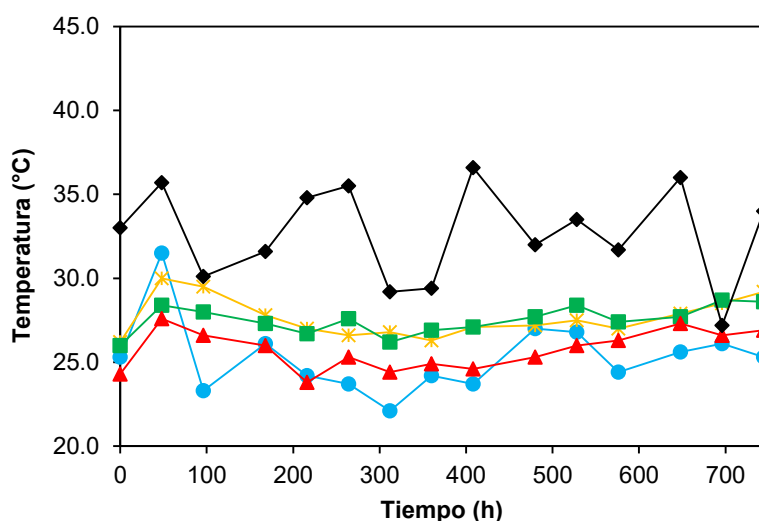


Figura 5. Temperatura (°C) en el punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■), en P4 (▲) y temperatura ambiente (♦) durante un periodo de 30 días.

La cantidad de sólidos totales permanece relativamente estable en la mezcla de alimentación (P1), en cambio, en los puntos ubicados en el interior del biodigestor (P2 y P3) y en el efluente se presentaron fluctuaciones más significativas como se indica en la Figura 6.

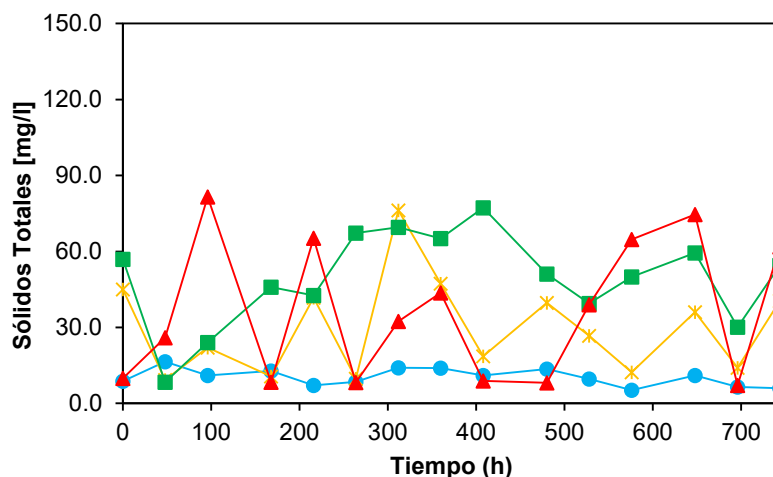


Figura 6. Sólidos totales en punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■) y en P4 (▲) durante un periodo de 30 días.

La DQO total mostraron fluctuaciones más significativas, especialmente en el interior del biodigestor (P2 y P4). Esto sugiere cambios importantes en la composición de la materia orgánica presente en el sistema, posiblemente debido a la actividad biológica y los procesos de degradación que ocurren en el interior del reactor que conlleva a una alta heterogeneidad de las muestras (Figura 7).

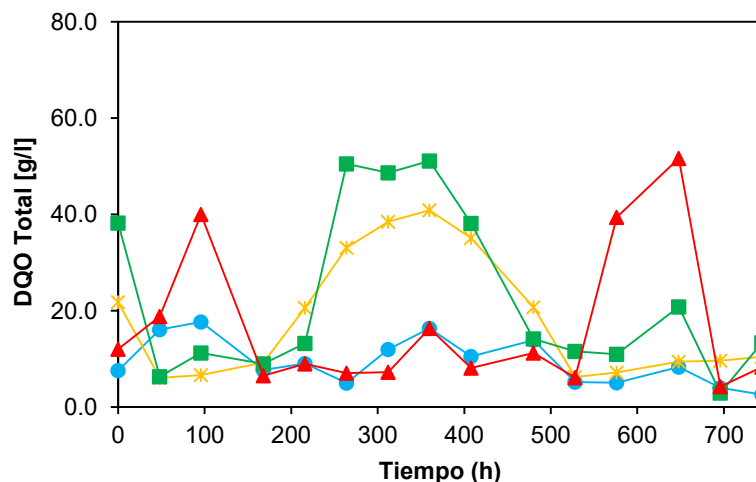


Figura 7. DQO total en punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■) y en P4 (▲) durante un periodo de 30 días.

En la Figura 8, se observa una reducción significativa en la cantidad de carbohidratos al comienzo de la digestión lo que indica que están siendo metabolizados por los microorganismos presentes en el sistema (Deublein y Steinhauser, 2008). Posterior a ello, la disminución de carbohidratos es menos marcada.

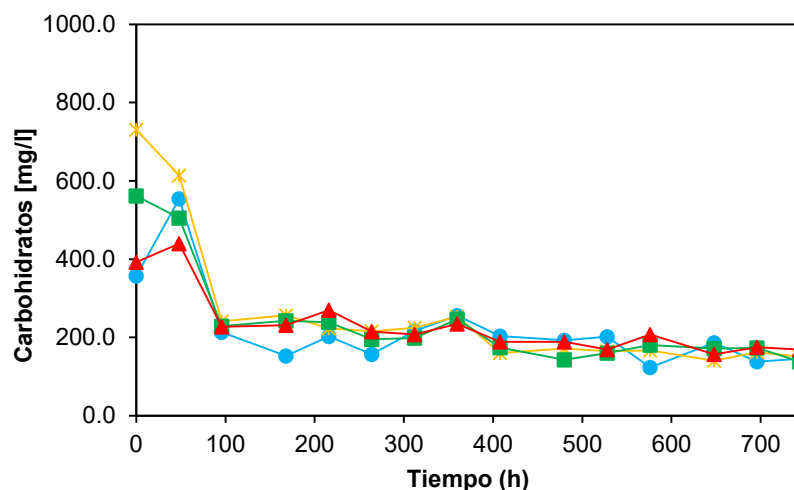


Figura 8. Carbohidratos (mg/L) en el punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■), en P4 (▲) y temperatura ambiente (◆) durante un periodo de 30 días.

El porcentaje de carbono en la mezcla de alimentación (P1) fue más alto con respecto a los otros puntos de muestreo (P2, P3 y P4). En estos puntos los valores de porcentaje de carbono fueron estables durante el periodo de evaluación (28.4 a 38.1 %) (Figura 9).

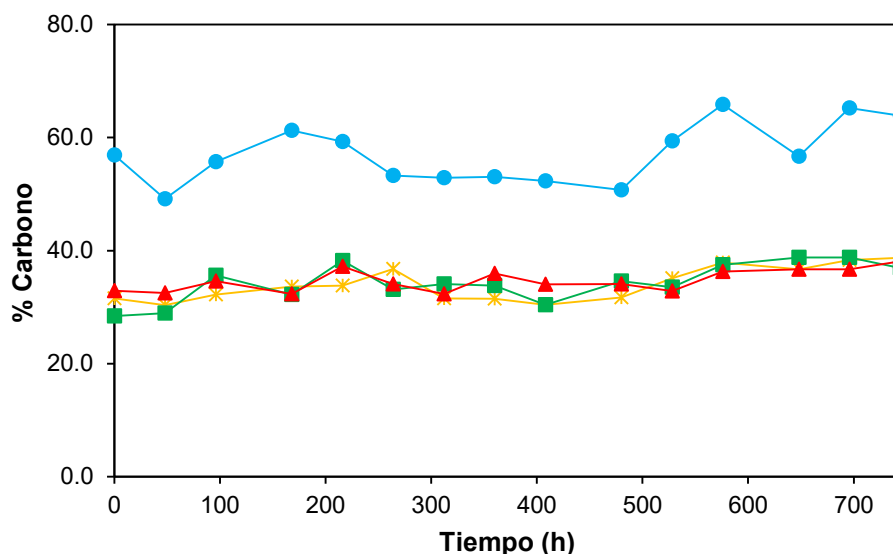


Figura 9. Porcentaje de carbono en el punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■), en P4 (▲) y temperatura ambiente (◆) durante un periodo de 30 días.

Los niveles de alcalinidad experimentaron variaciones a lo largo del período de análisis. Se observó una mayor estabilidad en las mediciones de alcalinidad en las muestras obtenidas en P1. Es probable que las fluctuaciones en los otros puntos se debieran a la heterogeneidad de las muestras dentro del biodigestor y en su salida (Figura 10).

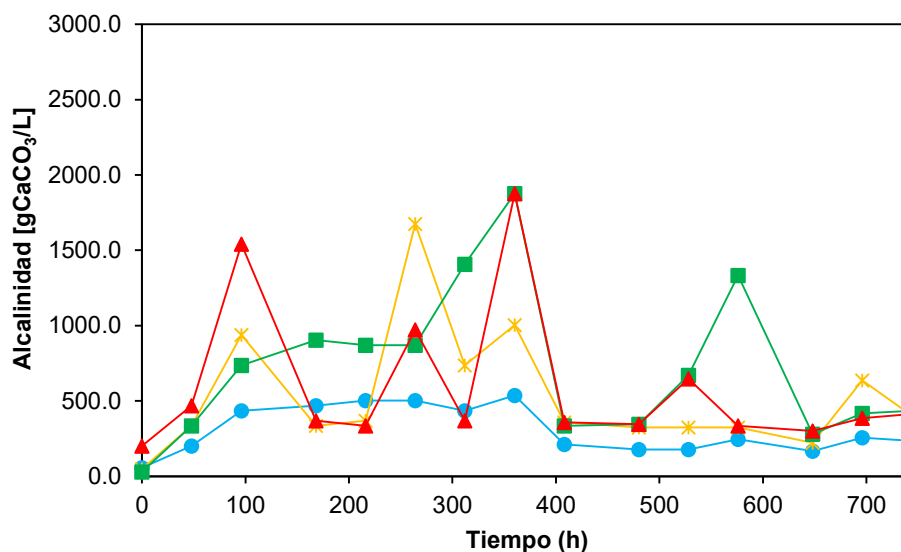


Figura 10. Alkalinidad en el punto de muestreo P1 (●), P2 (x), P3 (■), en P4 (▲) y temperatura ambiente (◆) durante un periodo de 30 días.

El porcentaje de metano en el biogás fue constante, el cual varió en un rango entre 56.9 y 67.4% (Figura 11). La constancia en el porcentaje de metano en el biogás son indicadores positivos de que el sistema está funcionando de manera eficiente y estable a lo largo del tiempo. El biogás producido es de una buena calidad, ya que el metano es el componente principal (Deublein y Steinhauser, 2008).

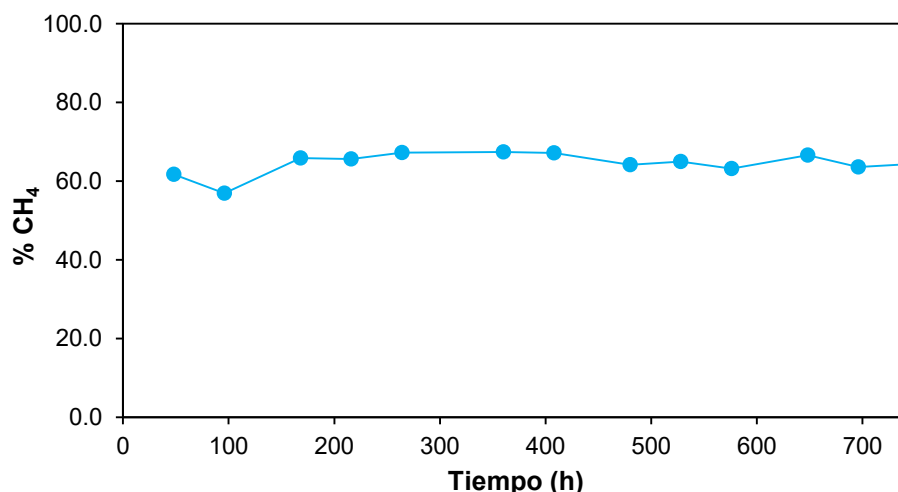


Figura 11. Porcentaje de metano durante un periodo de 30 días.

En el presente trabajo de investigación se utilizó estiércol vacuno sin mezclar con otros sustratos (mono-digestión) y sin aplicar algún tipo de pretratamiento físico, químico o biológico. La digestión se llevó a cabo a temperatura ambiente (8.3-34.3 °C) en un reactor de 10 000 L. El contenido de metano (56.9-67.4%) fue similar con respecto a lo reportado por otros autores (Marañón et al. 2001; Castrillón et al., 2002; Alkaya et al., 2010; Rico et al., 2011; Montoro et al., 2019). En la mayoría de estos estudios se usaron reactores a escala laboratorio (1.05 - 60 L). Rico et al., (2011) emplearon un reactor a escala piloto (1.5 m³). En los estudios de Marañón et al. (2001), Alkaya et al., (2010) y Rico et al., (2011) la temperatura fue controlada a 35 - 37 °C, en cambio, Castrillon et al., (2002) manejaron una temperatura de 55 °C y Montoro et al., (2019) llevaron a cabo el proceso a

temperatura ambiente. En estos estudios se emplearon reactores CSTR (Rico et al., 2011) y UASB (Marañón et al., 2001; Castrillón et al., 2002).

Se puede señalar que los resultados obtenidos en nuestra investigación están alineados con los hallazgos de otras investigaciones en términos de porcentaje de metano, a pesar de las diferencias en los sustratos utilizados, el tipo de reactor y las condiciones de operación.

CONCLUSIONES

Durante el período de evaluación, se observaron las mayores variaciones en los parámetros de DQO, contenido de sólidos y alcalinidad entre los diferentes puntos de muestreo. En contraste, los demás parámetros evaluados mostraron mayor estabilidad en las mediciones. La temperatura interna del biodigestor fluctuó entre 26.0 y 30.0°C. Se registró un aumento en el pH y una disminución en la conductividad durante la digestión. La concentración de carbohidratos disminuyó durante la etapa inicial de la biodigestión y posteriormente se mantuvo estable, mientras que el porcentaje de carbono se mantuvo constante a lo largo del proceso.

Se recomienda recircular los lodos anaerobios procedentes del biodigestor para mejorar las propiedades del digestato y asegurar una mayor homogeneidad del lodo en el interior del biodigestor, lo que permite reducir la variabilidad en las muestras. A pesar de no haber empleado co-digestión ni pretratamiento del sustrato, la calidad del biogás obtenido fue satisfactoria ($64.5 \pm 2.9\%$), conforme a los estándares observados en otras investigaciones revisadas. Cabe destacar que este estudio se realizó utilizando un biodigestor de mayor capacidad en comparación con otros estudios, logrando mantener un rendimiento óptimo del sistema. Estos hallazgos sugieren que los biodigestores de geomembrana de PVC tipo flujo pistón pueden ser una alternativa viable para la producción de biogás en áreas rurales, utilizando exclusivamente estiércol vacuno, sin necesidad de mezclar con otros sustratos o aplicar algún tipo de pretratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia internacional de energía (AIE) (2013). Extraído en septiembre de 2016, desde: <http://datos.bancomundial.org/indicador/eg.use.elec.kh.pc?locations=mx>
2. Alkaya, E., Erguder, T.H., Demirer, G.N., Effect of operational parameters on anaerobic co-digestion of dairy cattle manure and agricultural residues: a case study for theKahramanmarasregion in Turkey. Eng. Life Sci. 2010, 10, 552–559.
3. American Public Health Association (APHA) (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC, USA.
4. Bloomberg New Energy Finance (2017). Climatescope 2017: The clean energy country competitiveness index. Consultado enero 2020 desde: <http://2017.global-climatescope.org/en/download/reports/climatescope-2017-report-en.pdf>
5. Camarena E. A. (2009). Manual de Manufactura, Instalación y Operación del Biodigestor Escalable para tratamiento de media a tres toneladas por día de estiércol. Informe de avance de proyecto (GTO-2007-02-69332) “Desarrollo de un prototipo de biodigestor escalable para tratamiento de media a tres toneladas por día de estiércol” Etapa 2: Arranque y Operación.
6. Castrillon, L., Vazquez, I., Maranon, E., Sastre, H., Anaerobic thermophilic treatment of cattle manure in UASB reactors. Waste Manage. Res. 2002, 20, 350–356.
7. Chen, S.; Zhang, J.; Wang, X. (2015). Effects of alkalinity sources on the stability of anaerobic digestion from food waste. Waste Management & Research, (), 0734242X15602965–. doi:10.1177/0734242X15602965
8. Deublein, D. & Steinhauser, A. (2008). Biogas from waste and renewable resources: an introduction. Ed. Wiley-VCH. Weinheim.
9. DuBois, Michel; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, Fred (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal Chem 28(3), 350–356. doi:10.1021/ac60111a017

10. Khanal, S. K. (2008). Anaerobic reactor configurations for bioenergy production. *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications*, 93-114.
11. Kumar, V., V.Sridevi, K., Rani, M., Sakunthala C., & Santosh Kumar. (2013). A review on production of biogas, fundamentals, applications & its recent enhancing techniques. *Elixir Chem. Engg.*, 57, 14073-14079.
12. Li, Yu; Zhao, Jing; Krooneman, Janneke; Euverink, Gert Jan Willem (2020). Strategies to boost anaerobic digestion performance of cow manure: Laboratory achievements and their full-scale application potential. *Science of The Total Environment*, (), 142940-. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.142940
13. Marañón, E., Castrillón, L., Vázquez, I., Sastre, H., The influence of hydraulic residence time on the treatment of cattle manure in UASB reactors. *Waste Manage. Res.* 2001, 19, 436–441.
14. Montoro, S.B., Lucas Jr., J., Santos, D.F.L., Costa, M.S.S.M., 2019. Anaerobic co-digestion of sweet potato and dairy cattle manure: a technical and economic evaluation for energy and biofertilizer production. *J. Clean. Prod.* 226, 1082–1091.
15. Nasir I. M.; Mohd Ghazi Tinia I.; Rozita Omar (2012). Anaerobic digestion technology in livestock manure treatment for biogas production: A review, 12(3), –. doi:10.1002/elsc.201100150
16. Parawira, W., Murto, M., Read, J.S., & Mattiasson, B. (2005). Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochemistry*
17. Sarmiento, M. (2011). Alternativas de compostaje de aserrín de pino Caribe (*Pinus caribaea*) en la industria maderera Refocosta S.A., municipio de Villanueva, Casanare, Colombia. *RIAA*, 2(2):21-32.
18. Schink, B. (1997). Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61 (2), 262-280.
19. Rico, C., Rico, J. L., Munoz, N., Gomez, B. et al., Effect of mixing on biogas production during mesophilic anaerobic digestion of screened dairy manure in pilot plant. *Eng. Life Sci.* 2011, 11, 476–481.
20. Secretaría de Energía (SENER) (2022). Reporte de avance de Energías Limpias: Anexo 2. Consultado en febrero de 2024: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://base.energia.gob.mx/prodesen22/Anexo2.pdf
21. Tauseef, S.M.; Premalatha, M.; Abbasi, Tasneem; Abbasi, S.A. (2013). Methane capture from livestock manure. *Journal of Environmental Management*, 117(), 187–207. doi:10.1016/j.jenvman.2012.12.022
22. Walkley, A & IA Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
23. Wellinger, A., Murphy, J. & Baxter D. (2013). *The biogas handbook: science, production and applications*. Woodhead Publishing Series in Energy, 52.

DISEÑO DE UN PROTOTIPO PARA TRATAMIENTO DE AGUAS PLUVIALES Y DOMÉSTICAS

Britany Yaret Espinosa De La Luz,¹ Iván Arroyo Ordoñez²

Universidad Politécnica de Cuautitlán Izcalli.

britanyespinozadluz.2020-3@upci.edu.mx¹, ivanaor@upci.edu.mx²

RESUMEN

A principios de este milenio el gobierno mexicano declaró las condiciones del agua como una problemática de interés nacional y regional, el agua es un recurso importante, aunque la preservación de este recurso se encuentra amenazado por el deterioro constante como consecuencia de la sobreexplotación y falta de cultura de cuidado del agua por parte del hombre. Los Biofiltros contruidos artificialmente tienen como función depurar el agua residual de los hogares, de tal manera que el agua pueda reusarse para riego de plantas, uso de descarga en el sistema sanitario y lavado de autos. Este prototipo consta de 4 etapas de tratamiento y un filtro mecánico. Las dos primeras fases son trampas de grasas encargándose de separar mediante densidades la grasa, el agua y mantener los sólidos suspendidos para posteriormente pasar a la tercer fase de tratamiento que ofrecerá condiciones adecuadas para la obtención de bacterias aerobias quienes degradarán la materia orgánica presente en esta etapa del tratamiento; contiene manguera corrugada que funcionará como herramienta eficaz para la formación de biopelículas gracias a su estructura y una bomba de oxígeno la cual potenciará la formación de las bacterias de origen aerobio. En la cuarta fase de tratamiento tenemos materiales como el tezontle, reconocido por ser una roca porosa que presenta las características adecuadas para la formación de los biofilms y la guata, cuyas propiedades son retener el olor y disminuir ligeramente la coloración del caudal. Finalmente pasará al filtro mecánico el cual contiene materiales filtrantes como arena y grava ambas de tamaño fina y gruesa, algodón, gasas, vendas y carbón activado hecho a base de cascara de coco, dando como resultado final de manera visible un caudal clarificado y libre de olores distinto al de las condiciones iniciales. Para fundamentar el funcionamiento de este prototipo se realizaron análisis iniciales microbiológicos en las primeras tres etapas para identificar así la presencia de coliformes totales a medida que avanzaba el caudal a través del sistema. Se obtuvo que en las dos primeras etapas de tratamiento no hubo presencia de microorganismos, sino que hasta la tercera fase de tratamiento se encontró a la formación de la bacteria *E. coli* que ayudará a reducir la cantidad de materia orgánica alimentándose de ésta para minimizar la presencia de contaminantes en la siguiente etapa. Se constata el funcionamiento de dicho prototipo propuesto con base en los resultados de estas tres primeras etapas ya que han sido los esperados, comprobando la hipótesis preliminar de su funcionamiento y manejo, abriendo la posibilidad de presentar el diseño como alternativa en la carencia de este recurso. Emplear tecnologías innovadoras como biofiltros potencializa la apertura a las nuevas alternativas de filtración reduciendo los agentes químicos impulsando los tratamientos biológicos, los cuales otorgan una respuesta económica y viable a poblaciones de bajos recursos y fomentan una cultura de reusó, la cual disminuirá drásticamente los contaminantes que se vierten al sistema sanitario público de parte del uso doméstico diario.

Palabras clave: Tratamiento, Análisis microbiológicos, Etapas, Proceso, Diseño.

INTRODUCCIÓN

El manejo y tratamiento adecuado del agua es uno de los desafíos ambientales más críticos que enfrenta la humanidad en el siglo XXI. La creciente población mundial y la intensificación de la urbanización ejercen una presión sin precedentes sobre los recursos hídricos, llevando a la necesidad urgente de desarrollar estrategias sostenibles para la gestión del agua. Dentro de este contexto, la reutilización de aguas residuales, específicamente las aguas grises, se presenta como una alternativa prometedora para reducir la demanda de agua potable y mitigar la contaminación ambiental.

Las aguas grises, que comprenden aproximadamente el 50-80% del total de las aguas residuales domésticas, provienen de actividades diarias como el lavado de manos, duchas, lavado de ropa y lavado de platos, a diferencia de las aguas negras, que contienen una alta carga de materia fecal,

las aguas grises tienen un menor contenido de contaminantes orgánicos e inorgánicos, lo que las convierte en candidatas ideales para procesos de tratamiento y reutilización. La gestión eficiente de las aguas grises puede reducir significativamente el consumo de agua potable, disminuir la carga sobre los sistemas de alcantarillado y contribuir a la sostenibilidad ambiental.

En este marco, el presente trabajo se enfocó en desarrollar un diseño de un biofiltro para el tratamiento de aguas grises y efluentes domiciliarios, así también como reportar la efectividad de este a través de análisis microbiológicos. Un biofiltro es un sistema de tratamiento biológico que utiliza microorganismos para descomponer y eliminar los contaminantes presentes en el agua. Este método de tratamiento se destaca por su bajo costo operativo, facilidad de mantenimiento y su capacidad para adaptarse a diferentes escalas y contextos. El diseño de biofiltros no solo apunta a mejorar la calidad del agua tratada, sino también a ser una solución accesible y viable para comunidades con recursos limitados.

MARCO DE REFERENCIA

La filtración es uno de los procesos de tratamiento más importantes utilizados en el tratamiento de aguas y aguas residuales. En el tratamiento del agua se utiliza para purificar el agua superficial para uso potable, mientras que, en el tratamiento de aguas residuales, el objetivo principal de la filtración es producir efluentes de alta calidad para que pueda ser reutilizado para diversos fines. Cualquier filtro con biomasa adjunta en el medio filtrante se puede definir como un biofiltro. Puede ser el filtro percolador en el tratamiento de aguas residuales, filtro de roca horizontal en un arroyo contaminado, filtro de carbón activado granular (GAC), de arena en una planta de tratamiento de agua. El biofiltro se ha utilizado con éxito para el tratamiento de aire, agua y aguas residuales. Se introdujo por primera vez en Inglaterra en 1893 como filtro percolador en el tratamiento de aguas residuales. (Chaudhary, D. S, et al; 2003)

Uso de microorganismos

Se trata de biofiltros de tipo lecho fijo, que incorporan medio de soporte. con biopelícula que metaboliza activamente. En estos sistemas, la biomasa se distribuye en dos fracciones: la mayor parte inmovilizada como biopelícula sobre medio de soporte y la parte menor suspendida en el volumen vacío del biofiltro. La inmovilización del biofilm es causado por la formación de enlaces covalentes entre una variedad de grupos reactivos en las membranas microbianas ligandos en el material de cama (Cochet et al. 1990; Gemeiner et al. 1994; Cohen 2001)

Un biofiltro es un sistema de tratamiento de agua que utiliza procesos biológicos para eliminar contaminantes de las aguas residuales. La tecnología se basa en el uso de microorganismos que descomponen y metabolizan los contaminantes presentes en el agua, convirtiéndolos en productos menos nocivos o inertes. El biofiltro puede ser diseñado para tratar una variedad de aguas residuales, incluidas las aguas grises y domésticas (Zz Loh et al.2021)

A continuación, se describe detalladamente el funcionamiento de un biofiltro típico:

Componentes Principales

- **Medio Filtrante:** El medio filtrante es el sustrato donde los microorganismos se adhieren y crecen. Puede estar compuesto por materiales como grava, arena, carbón activado, materiales cerámicos, o plásticos especiales. La elección del medio influye en la eficiencia del biofiltro.
- **Microorganismos:** Estos son los agentes biológicos responsables de la degradación de los contaminantes. Incluyen bacterias, hongos y protozoos, que se desarrollan en la superficie del medio filtrante.
- **Sistema de Distribución de Agua:** Un mecanismo que asegura una distribución uniforme del agua sobre el medio filtrante. Puede consistir en una serie de tubos y boquillas diseñadas para dispersar el agua equitativamente.
- **Estructura de Soporte:** El contenedor que sostiene el medio filtrante y el sistema de distribución de agua. Puede estar hecho de materiales como concreto, plástico o metal.

ENFOQUE METODOLOGÍCO

Se realizaron análisis microbiológicos con el fin de evaluar la calidad del agua en términos de presencia y concentración de microorganismos patógenos y no patógenos, sobre placas estériles de agar Reasoner's 2A (R2A) y agar Eosina azul de metileno como medios de cultivo de tipo selectivo y diferencial que promueven y sustentan el crecimiento de los microorganismos presentes en la muestra a analizar por siembra en cajas Petri bajo un técnica de estriado masiva la cual nos permitió obtener un gran número de microorganismos en la superficie del agar.

Materiales y métodos:

3 frascos de vidrio para tomar muestra

3 pipetas Pasteur

3 jeringas de 10 ml

Agar R2A

Agar Eosina Azul de metileno

Isopos estériles

Azas bacteriológicas

Incubadora

Diseño de un prototipo para tratamiento de aguas pluviales y domésticas

Se propuso un diseño a escala piloto de un prototipo que opera de forma biológica bajo una técnica de lodos activados el cuál consta de 5 etapas de tratamiento y un filtro mecánico, las primeras dos etapas son trampas de grasas, pasando a una tercer etapa que funciona como un reactor de tipo aerobio, posteriormente dirigiéndose a una cuarta etapa de tratamiento de tipo anaerobio y como ultimo fase de tratamiento un filtro mecánico con carbón activado echo a partir de fibra de coco, se eligió este sistema debido al tratamiento que se le quiere dar al caudal recuperado evitando el uso de químicos durante todo el proceso.

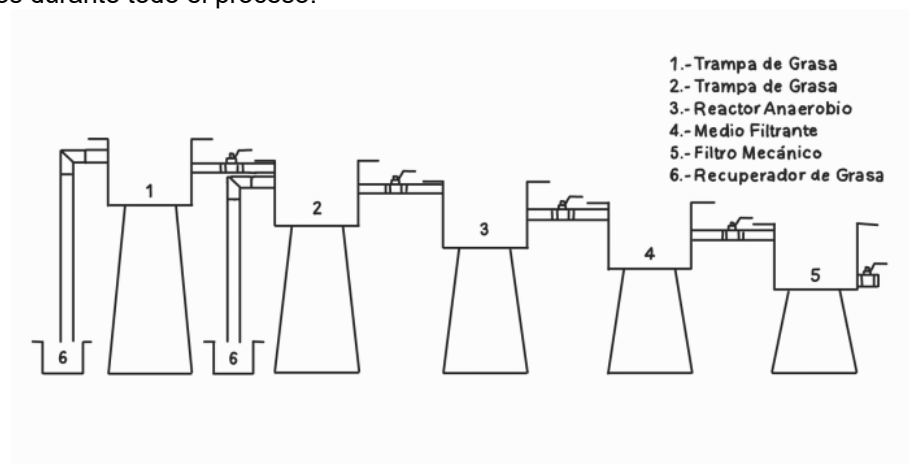


Figura 1. Diseño preliminar del biofiltro.

Una vez definido el diseño se procedió a realizar los análisis microbiológicos por etapa con el fin de determinar las condiciones del fluido a medida que el proceso de tratamiento avanzaba.

- Con ayuda de jeringas estériles se tomaron 10 ml de muestra de las primeras 3 etapas de tratamiento las cuales se introdujeron dentro de 3 frascos de vidrio estériles, cerrándolos para evitar algún tipo de contaminación externa.

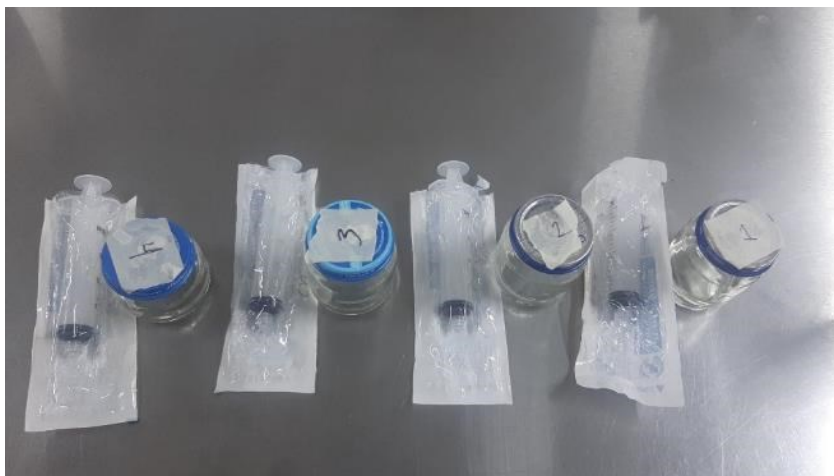


Figura 2. Recolección de muestras.

- Mediante una pipeta Pasteur diferente por fase se tomó 1 ml de inoculo de cada etapa y se sembró en 2 cajas Petri, una de agar R2A y otra de Agar Eosina Azul de Metileno, por la técnica de estriado masivo con ayuda de una aza bacteriológica.



Figura 3. Toma de muestra para sembrado.



Figura 4. Sembrado por estriado masivo en cada agar

- Las cajas Petri previamente sembradas se colocaron dentro de una incubadora a una temperatura de 44°C por alrededor de 5 días, para permitir el crecimiento de los microorganismos presentes.



Figura 5. Agares sembrados de cada etapa dentro de una incubadora.

- La información obtenida se colocó dentro de una tabla de resultados.

RESULTADOS



Figura 6. Prototipo ya armado y en funcionamiento.

Como resultado se logró que todo el sistema funcionará de manera adecuada consiguiendo que no se presentarán fugas que tuvieran como resultado la pérdida de caudal durante el proceso, al colocar llaves de paso tenemos como resultado el control del flujo permitiendo el tratamiento preestablecido en cada una de las etapas.

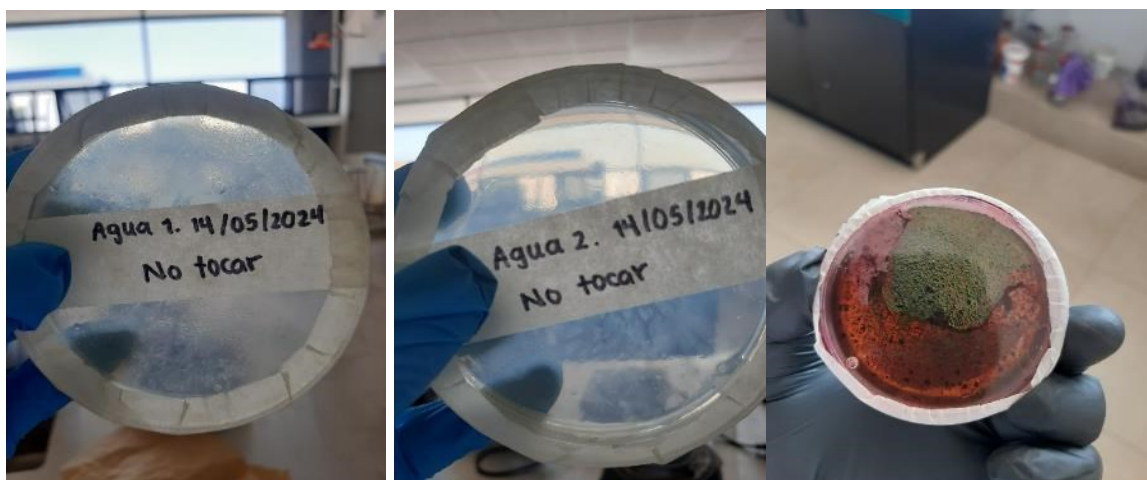


Figura 7. Caja Petri previamente incubadas de las primeras 3 fases de tratamiento. Después de la incubación se observaron las cajas petri para evaluar el crecimiento microbiano durante las primeras 3 etapas de tratamiento. En las primeras dos etapas de tratamiento no se obtuvo crecimiento de ningún tipo si no es que hasta la tercer etapa de tratamiento se observó el crecimiento de la bacteria *E. coli*.

Etapa de tratamiento	Agar R2A	Agar Eosina azul de metileno	Microorganismo encontrado
Pruebas microbiológicas			
Etapa 1	Sin crecimiento	Sin crecimiento	/
Etapa 2	Sin crecimiento	Sin crecimiento	/
Etapa 3	Crecimiento	Crecimiento	Bacteria <i>E. coli</i>

Figura 8. Tabla de resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

Con base a los análisis microbiológicos realizados en las primeras tres etapas de tratamiento podemos constatar el funcionamiento de dicho prototipo propuesto, así como también la importancia de regular el sistema con el fin de obtener las condiciones específicas mediante las cuales el caudal reciba el tratamiento adecuado y determinar si requiere de alguna mejora durante el proceso de tratamiento o mantener los parámetros de funcionamiento previamente establecidos, posteriormente se realizarán análisis de tipo fisicoquímicos que permitan evaluar condiciones tales como PH, turbidez, color, conductividad y demanda química de oxígeno entre otros elementos que nos permitan conocer las condiciones resultantes del agua a medida que avanza el proceso de tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Malakar, S., Saha, P. D., Baskaran, D., & Rajamanickam, R. (2017). Comparative study of biofiltration process for treatment of VOCs emission from petroleum refinery wastewater—A review. *Environmental technology & innovation*, 8, 441-461.
- Chaudhary, D. S., Vigneswaran, S., Ngo, H. H., Shim, W. G., & Moon, H. (2003). Biofilter in water and wastewater treatment. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 20, 1054-1065.
- Verma, M., Brar, S. K., Blais, J. F., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2006). Aerobic biofiltration processes—Advances in wastewater treatment. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, 10(4), 264-276.

DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE AGRADO DE LOS ATRIBUTOS DE LA HARINA DE LENTEJA (*LENS CULINARIS* M.) VERDE Y ROJA

Karla Montes-Rodríguez¹, Liliana Márquez Benavides², Consuelo de Jesús Cortés Penagos³, Berenice Yahuaca-Juárez³

¹Programa Institucional de Ciencias Biológicas, ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, ³Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México.
1130587d@umich.mx

RESUMEN

La evaluación sensorial es empleada para aceptar o rechazar un alimento por las sensaciones generadas por los sentidos humanos. La harina de lenteja es una alternativa al consumo tradicional y puede utilizarse para elaborar diversos alimentos. La composición fisicoquímica de las lentejas varía entre sus variedades (verde y roja) e influyen en sus atributos dando lugar a características sensoriales únicas en cada variedad, lo que determina la aceptación o rechazo del consumidor. El nivel de agrado de la harina de lenteja es esencial para explicar las preferencias de los consumidores en términos de atributos sensoriales y conducir el desarrollo de productos alimenticios con aceptación en la dieta regular, ya sea como sustituto de harinas de cereales o conformar una harina compuesta (cereal/legumbre). El objetivo del estudio fue determinar el nivel de agrado de los atributos de la harina de lenteja verde y roja. Las lentejas (*Lens culinaris* M.) verde y roja se llevaron a cocción tradicional hidrotérmica (15 y 5 min/94°C respectivamente), se deshidrataron (70°C/12horas) y molieron. Se obtuvo harina de lenteja cocida verde (HCOV) y roja (HCOR). El control fue harina de lenteja cruda verde (HCRV) y roja (HCRR). Se determinó el color de las harinas: ángulo de matiz (AM) e índice de saturación (IS). Se realizó una prueba afectiva con un panel de 100 jueces consumidores, evaluaron el nivel de agrado de la harina de lenteja en 10 g por cada muestra de harina, los panelistas calificaron las muestras en orden aleatorio, los atributos color y sabor utilizando una escala hedónica de 1 a 9 puntos (va desde “me gusta muchísimo” hasta “me desagrada muchísimo”). Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza, utilizando la diferencia mínima significativa (LSD) y $\alpha=0.05$ para comparación de medias. Los resultados muestran un mayor IS en HCRR y HCOR que en HCRV y HCOV debido a que la variedad roja presenta un color más vivo e intenso que la lenteja verde. El AM para HCRV y HCOV muestra una coloración amarillenta debido a la cocción, en HCRR el AM mostró una coloración rojiza debido a las antocianinas, las cuales se pierden por efecto de la temperatura resultando en HCOR un color amarillo-pajizo. En el panel de evaluación sensorial, el nivel de agrado para el color de la HCRR fue “Me gusta mucho” con un promedio de respuesta de los jueces de 7.62, seguido de la HCOR con “Me gusta” (7.26), mientras que para HCRV (6.14) y HCOV (5.94) indicó “Me gusta poco”. Para el sabor, el nivel de agrado fue “Me gusta poco” para HCOR (6.00) y HCOV (5.83), en tanto que las harinas crudas presentaron diferencias significativas siendo “No me gusta ni me disgusta” en HCRR (4.67) y “Me disgusta poco” para HCRV (3.90). El color y sabor son atributos que denotan la aceptación por parte del consumidor, por lo que las harinas de la variedad roja cruda y cocida presentaron mayor agrado por su coloración. Las harinas tratadas térmicamente tuvieron sensorialmente una mayor aceptación por su sabor, específicamente la variedad roja, la cual presenta notas dulces.

INTRODUCCIÓN

La lenteja (*Lens culinaris* M.) es una legumbre de gran interés, ya que contiene propiedades nutricionales importantes (alto contenido en proteínas, carbohidratos complejos como la fibra dietaria), además son de baja digestibilidad lo que reduce la respuesta glicémica en humanos cuando las consumen (Bouchenak y Lamri-Senhadjji, 2013). También contiene vitaminas del grupo B, minerales y polifenoles, todos ellos compuestos bioactivos con alta actividad antioxidante (Becerra-Tomás, 2019). Existe una gran variedad de lentejas, se diferencian por su forma, color y

tamaño. Las variedades son identificadas principalmente por color: rojas, verdes, marrones y negras (Chelladurai & Erkinbaev, 2020). En México, las lentejas verdes son las más comunes, siendo el estado de Michoacán el principal productor con el 90 % de la producción Nacional (Sáenz-Reyes, 2022). La lenteja verde se comercializa como semilla entera, está provista de cáscara y su color se debe a la presencia de carotenoides, pigmentos tetra-terpenoides solubles en grasa que confieren color amarillo, naranja y rojo, entre ellos la luteína (responsable del color amarillo y verde de diversos vegetales), zeaxantina y violaxantina. Por su parte, la lenteja roja, en su mayoría entra al mercado mexicano por importación, es una semilla descascarada y dividida, la coloración que presentan se debe a la presencia de pigmentos como luteína y zeaxantina, así como antocianinas (Kan, *et al.*, 2018). Estas diferencias denotan un cambio en la composición de cada semilla y tendrán un impacto en los atributos sensoriales tales como color, olor, sabor y textura.

Aun cuando la producción de lenteja es alta, la población ha dejado de incorporarla en su dieta diaria, entre las razones se encuentra su baja digestibilidad debido a la presencia de compuestos anti-nutricionales, causantes de distensión abdominal y flatulencias, otro factor incidente es el tiempo requerido para elaborar un platillo. En este sentido, una alternativa para diversificar el uso de esta legumbre aprovechando sus propiedades nutricionales, es la producción de matrices alimentarias, un ejemplo de ello es la harina. Actualmente existe una tendencia hacia los alimentos de consumo rápido, estimulando el interés en el procesamiento de legumbres para obtener harinas (Rawal & Bansal, 2019). Las harinas tienen una alta demanda en el mercado ya que se pueden utilizar para desarrollar nuevos productos alimenticios o como un sustituto de otras harinas como la de trigo.

La harina de lenteja se obtiene por molienda directa o cocción de las semillas enteras (variedad verde) o descascaradas (variedad roja). Para una utilización óptima, se deben tener en cuenta los componentes de la lenteja (almidón, proteínas, agua, fibra) que modifican el comportamiento e interaccionan entre sí durante el procesamiento (mecánico o tratamiento térmico) y que determinan las propiedades sensoriales de las harinas (Chel, Corzo, & Betancur, 2003). El procesamiento de transformación de la lenteja puede entonces modificar sus propiedades nutricionales, tecnofuncionales y sensoriales, entre estos últimos destacan: sabor, color, aroma, textura y apariencia.

Entre los atributos sensoriales destaca el color, parámetro visual que genera aceptación o rechazo por parte del consumidor. El color es uno de los primeros elementos que se observan en la apariencia de un producto alimenticio, los consumidores desde su nacimiento asocian los colores con alimentos y los equiparan con sabores y gustos a lo largo de su vida. La apariencia de los alimentos evoca expectativas sobre las propiedades saciantes, mejorando o no su aceptabilidad. El sabor por su parte está relacionado con el gusto y el olfato, es una respuesta compuesta por diversas sensaciones y cuyo resultado es aceptar o rechazar un alimento (Wanjiru, 2018).

Los atributos sensoriales que describen a la harina de lenteja como alternativa de consumo para el desarrollo de nuevos productos deben presentar un grado aceptable de preferencia por parte del consumidor. La lenteja tiene un aroma y sabor característicos, cuando se somete a un tratamiento térmico y mecánico se producen cambios en sus atributos sensoriales por lo que es importante definir su nivel de agrado para ser adquirido y consumido. Actualmente no existen estudios que permitan conocer el perfil sensorial de la matriz alimentaria harina de lenteja. Por lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo de investigación fue determinar el nivel de agrado de los atributos sensoriales de harina de lenteja verde y roja.

PARTE EXPERIMENTAL

Material de estudio.

El material de estudio consistió en semillas de lenteja (*Lens culinaris* M.) variedad verde: Verde valle® y variedad roja: Lima Limón®. Ambas fueron adquiridas en un mercado local de la cd. De Morelia, Michoacán. La harina de lenteja se obtuvo por cocción de la legumbre en agua a 94 °C (5 minutos roja y 15 minutos verde). Se deshidrataron (12 horas/70°C) y molieron obteniendo harina

de lenteja cocida verde (HCOV) y harina de lenteja cocida roja (HCOR). El control fue harina de lenteja cruda verde (HCRV) y harina de lenteja cruda roja (HCRR).

Determinación de color en las harinas de lenteja.

De cada harina se determinó el color con un colorímetro portátil Marca FRU®, utilizando el sistema CIE Lab. Se obtuvo el valor de luminosidad (L) y las coordenadas de color a y b. A partir de las coordenadas de color se calculó el ángulo de matiz (AM) y el índice de saturación (IS):

$$AM = \arctan \frac{b}{a}$$

$$IS = \sqrt{a^2 + b^2}$$

Determinación del nivel de agrado de las harinas de lenteja verde y roja.

El nivel de agrado de las muestras de harina de lenteja (HCRV, HCRR, HCOV y HCOR) se determinó siguiendo la metodología de prueba sensorial de aceptación, para ello se utilizó una escala hedónica de nueve puntos para cada atributo. Para su evaluación, las muestras de cada harina de lenteja se presentaron en vasos de plástico codificados con tres dígitos aleatorios. Los atributos evaluados fueron color y sabor. La evaluación se llevó a cabo con 100 consumidores (jueces afectivos), 60 mujeres y 40 hombres, entre 18 y 50 años. A cada uno se le entregó una hoja de evaluación con las indicaciones correspondientes para llevar a cabo la evaluación sensorial.

Análisis estadístico

Se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA), utilizando la diferencia mínima significativa (LSD) y $\alpha=0.05$ para comparación de medias. Los datos fueron analizados con el programa estadístico Minitab versión 21.4.1

RESULTADOS

Color de las harinas de lenteja. Los parámetros fisicoquímicos de un alimento, en este caso de la harina de lenteja, están intrínsecamente relacionados con sus atributos sensoriales y por tanto de la percepción que el consumidor tenga sobre esta matriz alimentaria. Como se mencionó con anterioridad, las variedades de lentejas son distinguidas por su color, el procesamiento que se aplique para su transformación puede alterar el color inicial de la semilla. En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de color en las harinas de lenteja crudas y cocidas para ambas variedades (verde y roja). El índice de saturación (IS) hace referencia a la intensidad que tiene un matiz o color determinado, de acuerdo con los resultados obtenidos, las harinas de la variedad roja presentan una mayor intensidad de matiz, con un IS significativamente mayor ($P<0.5$) que las harinas de lenteja verde (HCRV 15.11 y HCRR 21.31).

Tabla 6. Determinación de color en las harinas de lenteja de las variedades verde y roja

Harina	IS	AM
HLCRV	15.11 ± 0.88b	83.46 ± 0.93a
HLCOV	13.45 ± 0.64c	81.39 ± 0.33b
HLCRR	21.32 ± 1.04a	63.95 ± 0.35d
HLCOR	21.88 ± 1.40a	75.50 ± 0.58c

Los datos se expresan como la media ± desviación estándar, n=3. Medias con letras diferentes difieren significativamente ($P<0.05$)

Cuando la lenteja es llevada a una cocción tradicional, el IS disminuye significativamente en la variedad verde con respecto a su propio control (HCRV 15.11, HCOV 13.45), en lo referente a la variedad roja, el tratamiento térmico empleado no altera significativamente el IS (HCRR 21.31, HCOR 21.88). Diversos estudios indican cambios en el IS de legumbres al ser llevadas a diferentes tratamientos, un caso particular es el presentado por (Pieniazek, Sancho, & Messina, 2015) para harina de lenteja roja cruda-liofilizada (26.16 y 24.87).

El ángulo de matiz (AM) por su parte, representa las propiedades de un color, se define como el grado en el cual un estímulo puede describirse como similar o diferente de los colores rojo, amarillo y azul. En la Tabla 1 puede observarse que la harina de lenteja verde presenta un mayor AM que la harina de lenteja roja. En las harinas de ambas variedades es posible observar que cuando la lenteja es cocida a través de la cocción tradicional, el AM disminuye significativamente. La luteína es el principal compuesto que da la coloración a la lenteja verde, es un compuesto estable a la temperatura, sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio hay una modificación significativa del AM cuando la lenteja se lleva a cocción (HCRV 83.46° y HCOV 81.39°) presentando coloración amarillenta, esto puede deberse no solamente a la temperatura utilizada en la cocción, puede considerarse además el efecto del esfuerzo mecánico implicado en la molienda para la obtención de la harina. En el caso de la harina de lenteja roja, en la HCRR el AM señala una coloración rojiza (63.95°), la cual se cambia a amarillo-pajizo tras la cocción (75.50°), este cambio de coloración puede deberse a la degradación de las antocianinas responsables de la coloración de la lenteja roja. Autores como Pieniazek *et al.* (2015) presentan un AM similar en HCRR (70.92°).

Nivel de agrado de las harinas de lenteja verde y roja. El nivel de agrado con respecto al atributo de color de las harinas de lenteja se presenta en la Tabla 7. La harina de lenteja cruda verde muestra un nivel de agrado de 6.1 con una interpretación en la escala hedónica de “Me gusta poco”, esta apreciación no se modifica en las harinas de lenteja verde cuando esta es tratada por cocción tradicional, permaneciendo en un “Me gusta poco” con una media de 5.9. Caso contrario se observa en las harinas de lenteja roja, las cuales tienen un mayor nivel de agrado que las harinas procedentes de la lenteja verde, situándose en me gusta mucho y me gusta. En la harina de lenteja roja, la harina cruda presenta la media más alta de todas las harinas (7.6), interpretada como “Me gusta mucho”, sin embargo, cuando la lenteja roja se lleva a cocción tradicional, la media disminuye y su interpretación refiere “Me gusta”.

Tabla 7. Nivel de agrado del atributo color en harinas de lenteja de las variedades verde y roja.

Harina de lenteja	Color (Media)	Escala Hedónica Interpretación
HLCRV	6.1c	Me gusta poco
HLCRR	7.6a	Me gusta mucho
HLCOV	5.9c	Me gusta poco
HLCOR	7.3b	Me gusta

Se utilizó una escala hedónica de nueve puntos; desde 1= me disgusta muchísimo hasta 9= me gusta muchísimo. Medias con letras diferentes difieren significativamente (P<0.05).

El nivel de agrado observado en el color de las harinas de lenteja está directamente relacionado con los cambios en el IS y el AM para cada una de ellas. Las harinas de lenteja roja refieren coloraciones rojizas y amarillo-pajizo resultado ser más atractivos que el amarillento de las harinas de lenteja verde.

En la Tabla 8 se presentan los resultados referentes al nivel de agrado del atributo sabor en las harinas de lenteja. De forma general se aprecia que el nivel de agrado con respecto al sabor de las harinas se sitúa en la mitad inferior de la escala hedónica, ubicándose en un rango de “No me gusta

ni me disgusta” a “Me disgusta poco”. Las harinas de lenteja cruda de ambas variedades obtuvieron medias menores (HLCRR 4.67 “No me gusta ni me disgusta” y HLCRV 3.90 “Me disgusta poco”) que las harinas de lenteja cocida (HLCOR y HLCOV 6.00 y 5.83, respectivamente, correspondiendo a un nivel de agrado de “Me gusta poco”. Cabe resaltar que, entre las harinas de lenteja cruda, los valores presentaron diferencias estadísticamente significativas, en tanto que entre las harinas de lenteja cocida para ambas variedades no fueron diferentes estadísticamente ($\alpha=0.05$).

Tabla 8. Nivel de agrado del atributo sabor en harinas de lenteja de las variedades verde y roja.

Harina de lenteja	Sabor (Media)	Escala Hedónica Interpretación
HLCRV	3.9c	Me disgusta poco
HLCRR	4.6b	No me gusta ni me disgusta
HLCOV	5.8a	Me gusta poco
HLCOR	6.0a	Me gusta poco

Se utilizó una escala hedónica de nueve puntos; desde 1= me disgusta muchísimo hasta 9= me gusta muchísimo. Medias con letras diferentes difieren significativamente ($P<0.05$).

Los resultados encontrados en el nivel de agrado para el atributo sabor proporcionan una información relevante, ya que denota que la cocción modifica de forma benéfica el sabor de las harinas y aunque no son aceptables en la escala hedónica de más allá de “me gusta poco”, es importante recordar que la harina de lenteja es una matriz alimentaria, cuya participación es intermedia en la formulación de un alimento, donde habrá de combinarse con otras materias primas y someterse a otros procesos tecnológicos, para la elaboración del producto terminado. Si la matriz alimentaria harina de lenteja es destinada a su consumo directo, por ejemplo, como pure o papilla, es importante tomar en consideración a las harinas de lenteja cocida y acondicionarlas con la finalidad de mejorar su sabor y por tanto la aceptación del producto.

CONCLUSIONES

El color y sabor son atributos que denotan el nivel de agrado y la aceptación por parte del consumidor. La cocción tradicional mejora la aceptabilidad del sabor de las harinas de lenteja de ambas variedades, sin embargo, el color de las harinas de lenteja roja es más atractivo para los consumidores. Esta información es importante para la formulación de alimentos a partir de la harina de lenteja ya que, al ser una matriz alimentaria se combinará con otros elementos parte de una formulación, además de exponerse a procesos tecnológicos para su transformación, lo que puede influir en su aceptabilidad final. Para su consumo directo, es importante acondicionar las harinas de lenteja cocida para mejorar su sabor y aceptación.

BIBLIOGRAFÍA

- Apaza, B. (2023). *Repositorio Institucional Universidad Mayor de San Andres*. Obtenido de <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/34261>
- Becerra-Tomás, N. P.-S. (2019). Legume consumption and cardiometabolic health. *Advances in Nutrition*, 10(Supplement_4), S437-S450.
- Bouchenak, M., & Lamri-Senhadj, M. (2013). Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. *Journal of medicinal food*, 16(3), 185-198.
- Chel, L., Corzo, L., & Betancur, D. (2003). Estructura y propiedades funcionales de proteínas de leguminosas. *Revista de la Universidad Autónoma de Yucatán*, 37-39.

- Chelladurai, V., & Erkinbaev, C. (2020). Lentils. En A. Manickavasagan, & P. Thirunathan, *Pulses* (pág. 129). Switzerland : Springer .
- Kan, L., Nie, S., Hu, J., Wang, S., Bai, Z., Wang, J., . . . Song, K. (2018). Comparative study on the chemical composition, anthocyanins, tocopherols and carotenoids of selected legumes. *Food Chemistry* , 3.
- Pieniazek, F., Sancho, A., & Messina, V. (2015). Texture and color analysis of lentils and rice for instant meal usin image process techniques. *Journal of Food Processing and Preservation* , 4-5.
- Rawal, V., & Bansal, V. (2019). Lentil: emergence of large-scale, export-oriented production . En V. Rawal, & D. K. Navarro, *The Global Economy of Pulses* (págs. 77-79). Rome : FAO.
- Sáenz-Reyes, J. T.-F.-R.-S.-Q.-R. (2022). Diagnóstico del cultivo de lenteja en unidades de producción familiar en Michoacán. . *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(spe27), 35-44.
- Wanjiru, J. (2018). Analysis of the factors that determine food acceptability. *The Pharma Innovation Journal*, 7(5), 253-257.

TOLERANCIA DE HUAUZONTLE (*CHENOPODIUM BERLANDIERI* SPP. *NUTTALLIAE*) A LA SALINIDAD DURANTE LAS ETAPAS DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO INICIAL

Eréndira Esmeralda Hernández-Andrade, Libia Iris Trejo-Téllez, Víctor Manuel Ordaz-Chaparro

Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Montecillo, Estado de México. México.
hernandez.erendira@colpos.mx

RESUMEN

El huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) es un pseudocereal nativo de México que se ha consumido desde tiempos prehispánicos hasta la actualidad como un quelite. Perteneció a la familia Chenopodiaceae, la cual comprende especies alimenticias y nativas adaptadas a condiciones climáticas adversas. La salinidad del suelo es uno de estos factores, se caracteriza por la presencia de iones de Na^+ y Cl^- , que en altas concentraciones son tóxicos; esto representa un riesgo para el crecimiento de las plantas, en la etapa de germinación y plántula. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue investigar el impacto del NaCl en la germinación y emergencia de plántulas de huauzontle. Se utilizaron semillas de los estados de Puebla, Tlaxcala y Ciudad de México. Estas semillas se sembraron en contenedores plásticos con turba como sustrato, y se les aplicaron diferentes dosis de NaCl: 0, 75, 150, 225 y 300 mM. Cada tratamiento se replicó cinco veces y se distribuyó al azar. La unidad experimental consistió en una caja de plástico con 30 semillas. Después de 24 h, se observó una germinación del 93 y 96 % en el cultivar Tlaxcala con 0 y 150 mM de NaCl; el cultivar Puebla, 100 y 98 % con 0 y 225 mM NaCl, respectivamente; y para CDMX 100 % y 96% con 100 y 75 mM NaCl. El porcentaje de germinación fue menor con 300 mM NaCl. Después de 11 d, las plantas tratadas con 0 a 150 mM NaCl tuvieron una altura media 4.3 cm, en los tres cultivares. El peso de biomasa fresca fue mayor con 0 y 225 mM NaCl en los cultivares de Puebla (0.80 y 0.86 g planta⁻¹) y Tlaxcala (0.74 y 0.81 g planta⁻¹), en comparación con el cultivar CDMX, donde ésta fue mayor (0.93 g planta⁻¹) con 75 mM NaCl. En general, tanto el peso de biomasa fresca como seca disminuyó con una concentración de 300 mM NaCl; sin embargo, el cultivar CDMX fue el que tuvo el menor peso de biomasa fresca con 0.74 g planta⁻¹. El peso de biomasa seca fue menor en todas las concentraciones de NaCl y en todos los cultivares, con un valor promedio de 0.02 g planta⁻¹. Se concluye que el huauzontle presenta una tolerancia a niveles de hasta 225 mM NaCl, durante la etapa de germinación y crecimiento.

INTRODUCCIÓN

Dentro de la familia Chenopodiaceae se ubica el huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*), es clasificado como un pseudocereal dado que sus semillas, al igual que las de los cereales son harinosas y son idóneas para la panificación; sin embargo, esta especie pertenece a las dicotiledóneas (Xingú-López *et al.*, 2018). Chenopodiaceae es una de las familias que incluye especies con metabolismo fotosintético C_4 entre las eudicotiledóneas; además, se considera que el género *Chenopodium* incluye sólo especies C_3 . Sin embargo, se ha mostrado la existencia de una transición de la fotosíntesis C_3 al tipo intermedio proto-Kranz al $\text{C}_3\text{-C}_4$ en *Chenopodium*. En específico, *C. berlandieri* muestra anatomía proto-Kranz (Yorimitsu *et al.*, 2019).

El huauzontle es nativo de México, siendo Puebla el principal estado productor en el país, se comercializa en estados del centro del país (Asad-Bustillos *et al.*, 2014). Esta especie se distribuye ampliamente en Norte y Centroamérica. Fue parte fundamental de la dieta de la población mesoamericana desde épocas prehispánicas donde era consumido como quelite. Esta especie junto con otros pseudocereales fueron considerados sagrados dado que su ingesta se relacionó con el incremento en la resistencia física y el desarrollo mental (Xingú-López *et al.*, 2018; Santiago-López *et al.*, 2023b).

El huauzontle es rico en proteínas, aminoácidos esenciales, fibra dietética, minerales, vitaminas y compuestos fenólicos. Adicionalmente, investigaciones recientes han mostrado nuevas aplicaciones terapéuticas del huauzontle fermentado en padecimientos como la depresión y ansiedad, muy

probablemente dados a través de mecanismos antioxidantes y anti-inflamatorios (Santiago-López *et al.*, 2023a).

Por otra parte, la salinización del suelo representa uno de los principales retos en la agricultura actual dado que afecta a cerca del 10% de los suelos y el 50% las tierras irrigadas del planeta, lo que reduce de manera sustancial el rendimiento de los cultivos (Qadir *et al.*, 2014; Guo *et al.*, 2020).

La salinidad ocasiona en la planta absorción en exceso de iones sodio y cloruro, así como estreses osmótico y oxidativo, que se traducen en citotoxicidad (Isayenkov y Maathuis, 2019). En particular, la alta salinidad del suelo inhibe la germinación de las semillas debido al bajo potencial osmótico creado alrededor de la semilla, lo que impide la absorción de agua. Además, las altas concentraciones de iones de sodio y cloruro en el suelo pueden ser tóxicas para las semillas (Guo *et al.*, 2020).

Plantas de la especie silvestre de arroz *Oryza coarctata*, emplean el ion Na^+ como osmolito sin afectar su crecimiento; esta especie tiene una anatomía similar a la proto-Kranz, caracterizada por haces de las células de la vaina agrandados y un menor número de células del mesófilo, así como mayor expresión de genes relacionados con el metabolismo fotosintético C_4 ; asimismo, esta especie mostró alta tolerancia a la salinidad (Yong *et al.*, 2022).

Se ha documentado que la secuencia del genoma de *C. berlandieri* mexicano puede ser una fuente útil de información para la adaptación de otras especies, particularmente al estrés salino, al poseer una copia funcional del gen *SOS1*, el cual codifica un transportador de iones sodio (Na^+) y que se ha identificado en diversos cultivos en suelos con alta salinidad (Samuels *et al.*, 2023). Adicionalmente, se indicó que *C. berlandieri* muestra anatomía proto-Kranz, lo cual la hace una especie potencialmente tolerante a la salinidad.

En el contexto anterior, este estudio evaluó los efectos de dosis crecientes de salinidad en germinación y crecimiento inicial de huauzontle.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Se utilizaron semillas de huauzontle originarias de los estados de Puebla, Tlaxcala y Ciudad de México.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Las semillas de los cultivares antes descritos se colocaron en contenedores plástico con turba como sustrato y se aplicaron como tratamientos las dosis siguientes de NaCl : 0,75, 150, 225 y 300 mM, durante 11 días. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones que se distribuyeron completamente al azar. La unidad experimental consistió en una caja de plástico con 30 semillas.

Variables a evaluar

Después de 11 días de aplicación de tratamientos se determinó el porcentaje de germinación, la altura de planta y los pesos de biomasa fresca y seca de plántulas.

Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$), con el programa estadístico Statistical Analysis Systems (SAS, 2011).

RESULTADOS

La germinación y el crecimiento de las plántulas son las etapas más críticas y vulnerables en el ciclo de vida de las plantas. Por ello, los estudios de salinidad se han centrado en estas dos etapas

principales, mismas que se consideran para determinar la resistencia a la salinidad (Irik y Bikmaz, 2024).

La germinación de una semilla depende del equilibrio de dos fuerzas opuestas: el potencial de crecimiento del eje embrionario (zona de crecimiento radícula-hipocótilo) y la contención de las capas que cubren la semilla (endospermo, testa y pericarpio) (Steinbrecher y Leubner-Metzger, 2017). Después de 24 h, se observó una germinación del 93 y 96 % en el cultivar Tlaxcala con 0 y 150 mM de NaCl. El cultivar Puebla registró 100 y 98 % de germinación con las concentraciones 0 y 225 mM NaCl, respectivamente. En el cultivar CDMX tuvo una germinación de 100 y 96% con 100 y 75 mM NaCl. El porcentaje de germinación fue significativamente menor en todos los genotipos con 300 mM NaCl. La germinación de las semillas y el vigor de la plúmula y la radícula son etapas vitales durante el ciclo de vida de la planta; las condiciones de alta salinidad impiden la absorción de agua por parte de las semillas lo que provoca una disminución en el porcentaje de germinación, así como bajo porcentaje de viabilidad (Kumar *et al.*, 2021). La salinidad disminuye los estimulantes de la germinación como el ácido giberélico (AG), incrementa la acumulación de ácido abscísico (ABA), altera la permeabilidad de la membrana y el comportamiento del agua en la semilla (Uçarlı, 2020).

Por otra parte, después de 11 d, las plantas de los tres cultivares tratadas con 0, 75 y 150 mM NaCl tuvieron una altura media de 4.3 cm. El peso de biomasa fresca de plántula fue mayor con 0 y 225 mM NaCl en los cultivares de Puebla (0.80 y 0.86 g planta⁻¹) y Tlaxcala (0.74 y 0.81 g planta⁻¹), en comparación con el cultivar CDMX, donde el PF fue mayor (0.93 g planta⁻¹) con 75 mM NaCl.

En general, la peso de las biomásas fresca y seca disminuyó con una concentración de 300 mM NaCl; sin embargo, el cultivar CDMX fue el que tuvo el menor peso de biomasa fresca con 0.74 g planta⁻¹; es decir, fue el más sensible a la salinidad. El peso de la biomasa seca fue estadísticamente menor al testigo en todas las concentraciones de NaCl y en todos los cultivares, con un valor promedio de 0.02 g planta⁻¹. La disminución en los pesos de biomásas fresca y seca es el resultado de la reducción en las relaciones carbono (C)/nitrógeno (N) originadas por la alteración en la asimilación de estos elementos esenciales que son los constituyentes principales de la biomasa vegetal. Se ha reportado que el efecto de mayor magnitud ocurre en la asimilación de C (Wang *et al.*, 2022).

CONCLUSIONES

Se concluye que el huauzontle es una especie que presenta tolerancia a niveles de NaCl de hasta 225 mM durante la etapa de germinación y crecimiento inicial. Probablemente estas respuestas son debidas a modificaciones como la presencia de la anatomía proto-Kranz y la posible activación del transportador SOS1 identificado en esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Kumar, V. Rodriguez, S. Verma, M. Singh, C. Hiremath, K. Shanker, A. S. Shukla, V. Sundaresan, "Effect of salt stress on seed germination, morphology, biochemical parameters, genomic template stability, and bioactive constituents of *Andrographis paniculata*", Acta Physiologiae Plantarum, Vol. 43, 68, 2021, <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03237-x>
2. A. Xingú-López, A. Balbuena-Melgarejo, A. Laguna-Cerda, L. G. Iglesias-Andréu, V. Olivares-Cruz, E. De la Cruz-Torres, "Caracterización de huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) del Estado de México mediante microsatélites" Ciencia y Tecnología Agropecuaria México, Vol. 6, 2, 2018, pp. 2-9.
3. C. Uçarlı, "Effects of salinity on seed germination and early seedling stage". In: Abiotic stress in plants, IntechOpen, 2021, <https://doi.org/10.5772/intechopen.93647>
4. H. A. Irik, G. Bikmaz, "Effect of different salinity on seed germination, growth parameters and biochemical contents of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds cultivars", Scientific Reports, Vol. 14, 6929, 2024, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55325-w>

5. J. Guo, M. Du, H. Tian, B. Wang, "Exposure to high salinity during seed development markedly enhances seedling emergence and fitness of the progeny of the extreme halophyte *Suaeda salsa*", *Frontiers in Plant Sciences*, Vol. 11, 1291, 2020, <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01291>
6. L. Santiago-López, A. Almada-Corral, H. S. García, V. Mata-Haro, A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Córdova, A. Hernández-Mendoza, "Antidepressant and anxiolytic effects of fermented huauzontle, a prehispánico Mexican pseudocereal", *Foods*, Vol. 12, 1, 53, 2023a, <https://doi.org/10.3390/foods12010053>
7. L. Santiago-López, H. S. García, A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Córdova, A. Hernández-Mendoza, "Propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de huauzontle (*Chenopodium berlandieri* subsp. *nuttalliae*, Chenopodiaceae) fermentado por *Lactiplantibacillus plantarum* Lp22", *Acta Botánica Mexicana*, Vol. 130, e2161, 2023b, <https://doi.org/10.21829/abm130.2023.2161>
8. L. Wang, Q. Zuo, J. Zheng, J. You, G. Yang, S. Leng, "Salt stress decreases seed yield and postpones growth process of canola (*Brassica napus* L.) by changing nitrogen and carbon characters", *Scientific Report*, Vol. 12, 17884, 2022, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22815-8>
9. M. Assad-Bustillos, M. Ramírez-Gilly, A. Tecante, L. Chaires-Martínez, "Caracterización reológica, térmica, funcional y fisicoquímica del almidón de semillas de huauzontle", *Agrociencia*, Vol. 48, 2014, pp. 789-803.
10. M. E. Samuels, C. Lapointe, S. Halwas, A. C. Worley, "Genomic sequence of Canadian *Chenopodium berlandieri*: A North American wild relative of quinoa", *Plants*, Vol. 12, 3, 467, 2023, <https://doi.org/10.3390/plants12030467>
11. M. Qadir, E. Quillerou, V. Nangia, G. Murtaza, M. Singh, R. J. Thomas, P. Drechsel, A. D. Noble, "Economics of salt-induced land degradation and restoration", *Natural Resources Forum*, 2014, <https://doi.org/10.1111/1477-8947.12054>
12. M. T. Yong, C. A. Solis, S. Amatoury, G. Sellamuthu, R. Rajakani, M. Makm G. Venkataraman, L. Shabala, M. Zhou, O. Ghannoum, P. Holford, S. Huda, S. Shabala, Z.-H. Chen, "Proto Kranz-like leaf traits and cellular ionic regulation are associated with salinity tolerance in a halophytic wild rice", *Stress Biology*, Vol. 2, 8, 2022, <https://doi.org/10.1007/s44154-021-00016-z>
13. S. V. Isayenkov y F.J.M. Maathuis, "Plant salinity stress: many unanswered questions remain", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 10, 2019, <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>
14. T. Steinbrecher, G. Leubner-Metzger, "The biomechanics of seed germination", *Journal of Experimental Botany*, Vol. 68, 4, 2017, pp. 765-783, <https://doi.org/10.1093/jxb/erw428>
15. SAS Institute Inc, "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
16. Y. Yorimitsu, A. Kadosono, Y. Hatakeyama, Y. Yabiku, O. Ueno, "Transition from C₃ to proto-Kranz to C₃-C₄ intermediate type in the genus *Chenopodium* (Chenopodiaceae)", *Journal of Plant Research*, Vol. 132, 2019, pp. 839-855, <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01135-5>

LITIO AFECTA LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DE BORO EN CHILE (*CAPSICUM ANNUUM* L.) CV. GUAJILLO

María de la Luz Buendía-Valverde¹, Fernando C., Gómez Merino², Libia I. Trejo-Téllez^{3*}

¹⁻³Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México. México.
tlibia@colpos.mx

RESUMEN

El boro (B) es un elemento esencial para plantas superiores. Se encuentra principalmente en la pared celular formando enlaces ésteres cruzados con el dímero ramnogalacturonano II, complejo esencial para la estructura y función de la pared celular. Por otro lado, el B al ser un micronutriente, presenta un rango extremadamente estrecho entre deficiencia y toxicidad; siendo de hecho más estrecho que ningún otro nutriente. Generalmente, suelos con menos de 0.5 mg B kg⁻¹ extraído con agua caliente es considerado deficiente; mientras que, concentraciones ligeramente mayores en el suelo pueden resultar en toxicidad. Por lo anterior, se evaluó el efecto que un elemento no esencial, el litio (Li), puede tener en la concentración foliar de B en plantas de chile cv. guajillo. El Li se encuentra en suelo y agua en concentraciones variadas, dependientes éstas de la naturaleza de rocas y minerales presentes; sin embargo, las fuentes antropogénicas como la fundición y la minería liberan cantidades importantes de Li al ambiente. En este estudio se realizó un experimento factorial 2 × 5, donde los factores de estudio (y niveles) fueron: fuente de Li (LiCl y Li₂MoO₄) y concentración de Li (0, 75, 150, 225 y 300 µM). Los tratamientos se aplicaron a la solución nutritiva empleada durante 28 d. Posteriormente se determinó la concentración foliar de B, en el extracto resultante de digestión ácida, por espectroscopia de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES). Se usó el programa SAS para el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$). Los resultados indican que la fuente LiCl ocasionó incremento en 6.4% en la concentración foliar de B, respecto a Li₂MoO₄. Asimismo, se registraron efectos significativos de la concentración de Li en la concentración de B en hojas, observándose que las dosis 150 y 225 µM, incrementaron en 14.2 y 11.7%, respectivamente, en comparación con el testigo sin Li. En consecuencia, el tratamiento consistente en 150 µM LiCl incrementó en promedio en 16.4% la concentración foliar de B en chile, con respecto a los tratamientos sin Li. Se concluye que el Li suministrado como LiCl a razón de 150 µM, incrementa de manera significativa la concentración foliar de B en plántulas de chile guajillo.

INTRODUCCIÓN

La liberación de B a la atmósfera ocurre a través de incendios forestales, combustión de carbón y las erupciones volcánicas (Kabu & Akosman, 2013).

El B pertenece a la familia de los metaloides, y en plantas superiores es un elemento esencial para su crecimiento y desarrollo. Las hojas verdes de hortalizas, verduras, frutas, legumbres y tubérculos contienen cantidades menores a 0.2 mg B kg⁻¹ de materia seca. En las células, el B está asociado con la estabilidad y la permeabilidad de la pared celular (Khaliq *et al.*, 2018). Asimismo, su papel en plantas superiores es primordial en el transporte de azúcares, el metabolismo de los carbohidratos, el metabolismo del ARN, la respiración, el metabolismo del ácido indolacético, el metabolismo del fenol y el transporte de membranas (Maldonado *et al.*, 2008; Brdar-Jokanović, 2020).

La deficiencia de B altera procesos bioquímicos, fisiológicos y morfológicos de las plantas debido a que provoca un impacto significativo en la producción de cultivos (Kabu & Akosman, 2013; Day & Aasim, 2020).

Por su parte, el Li tiene es un elemento que posee propiedades físicas y químicas particulares, es el metal más electropositivo, el más ligero ($M = 6.94 \text{ g mol}^{-1}$) y el menos denso ($\rho = 0.53 \text{ g cm}^{-3}$) que existe, con radio atómico de 0.157 (Å), radio iónico de 0.068 (Å) y primer potencial de ionización de

5.41 (eV). En su forma natural, el Li se encuentra presente en salmueras o minerales de roca dura (Tarascon, 2010; Sobolev *et al.*, 2019). Aunque de manera general todas las plantas absorben Li, la concentración, la especie y el cultivar tienen un rol principal en la absorción, debido a esto encontramos plantas con mayor y menor sensibilidad a la acumulación de Li. Las familias Asteraceae y Solanaceae tienden a almacenar Li sin presentar toxicidad; mientras que, los cítricos son sensibles al Li (Antonkiewicz *et al.*, 2017; Kuloğlu *et al.*, 2022).

Debido a su afinidad y similitud con otros elementos esenciales como el potasio (K), el calcio (Ca) y el magnesio (Mg), el Li puede unirse a sitios no ocupados por estos iones, lo que podría tener efectos en el comportamiento, la absorción y la concentración de otros nutrimentos. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de los tratamientos con 0, 75, 150, 225 y 300 μM Li empleando como fuentes LiCl y Li_2MoO_4 en la concentración foliar de B de plantas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) cultivadas en hidroponía.

PARTE EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó en condiciones de invernadero a temperatura promedio diurna y nocturna de 32 y 15 °C respectivamente, humedad relativa de 31% durante el día y de 87% por la noche.

Plántulas sanas de 60 d fueron establecidas en un sistema en hidroponía. La unidad experimental fue una caja de plástico de 4 L de capacidad con 8 plántulas colocadas en orificios en las tapas y usando hule espuma para dar soporte físico. Las raíces quedaron sumergidas en solución nutritiva universal Steiner al 35% (Steiner, 1984), la conductividad eléctrica fue de 0.7 dS m^{-1} . El pH fue ajustando diariamente a 5.5 ± 0.2 con solución 0.1 M de HCl y 0.1 M NaOH, reponiendo el agua evaporada cada 24 h y renovando la solución cada 7 d. La solución se oxigenó cada 3 h por 15 min con una bomba de aire durante todo el experimento. Dos semanas después (aclimatación), se aplicaron tratamientos, resultantes de un diseño factorial 2×5 . El primer factor de estudio fue la fuente de litio con los niveles LiCl y Li_2MoO_4 . El segundo factor de estudio fueron las dosis de Li: 0, 75, 150, 225 y 300 μM . La fase de tratamientos tuvo una duración de cuatro semanas.

Posterior a la fase de aplicación de tratamientos, las plantas se sacaron de los recipientes y se separaron por órgano en tallo, hoja y raíz. El material vegetal se secó a 72 °C en una estufa de aire forzado (Riossa 76 modelo HCF-125d; Monterrey, N. L., México) por 48 h. El material vegetal seco, se molió y se llevó a digestión con ácido perclórico y ácido nítrico, siguiendo la metodología descrita por Alcántar y Sandoval (1999). Finalmente, empleando un espectrofotómetro de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (ICP-OES 725-ES; Agilent; Santa Clara, CA. USA) se determinó la concentración foliar de B.

ANÁLISIS DE DATOS

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

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existieron diferencias estadísticas entre las fuentes de Li utilizadas en la concentración foliar de B. Específicamente, el LiCl incrementó en 6.4% la concentración de B con respecto a la fuente Li_2MoO_4 (Figura 1).

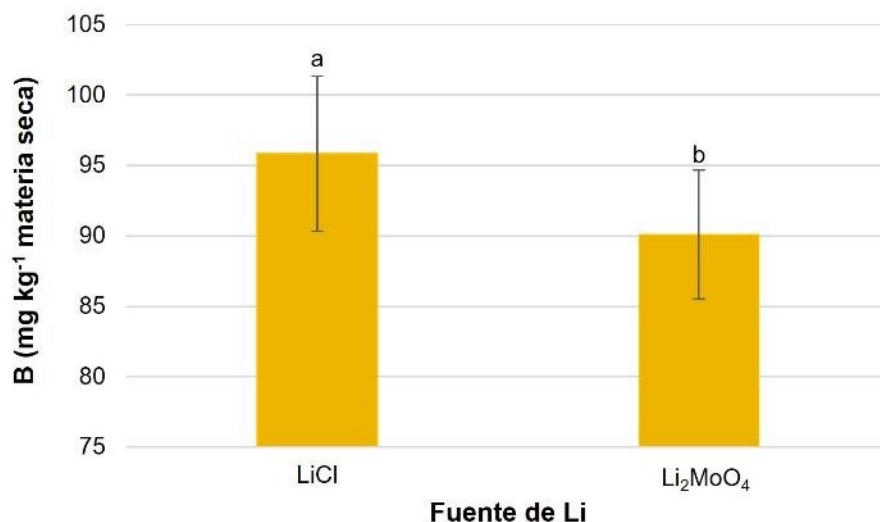


Figura 1. Concentración foliar de boro (B) en plantas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) tratadas con dos fuentes de Li durante 28 d. Medias $\pm$ DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

En lo que respecta al factor concentración de Li, se observó una relación positiva entre la dosis de Li suministrada y la concentración foliar de B. Se registraron incrementos de 6.6, 14.2, 11.7 y 7.0% con las dosis de 75, 150, 225 y 300 μ M Li, respectivamente, en comparación con el testigo sin Li. Estos resultados muestran efecto hormético positivo en el rango de concentración de Li de 150 a 225 μ M (Figura 2).

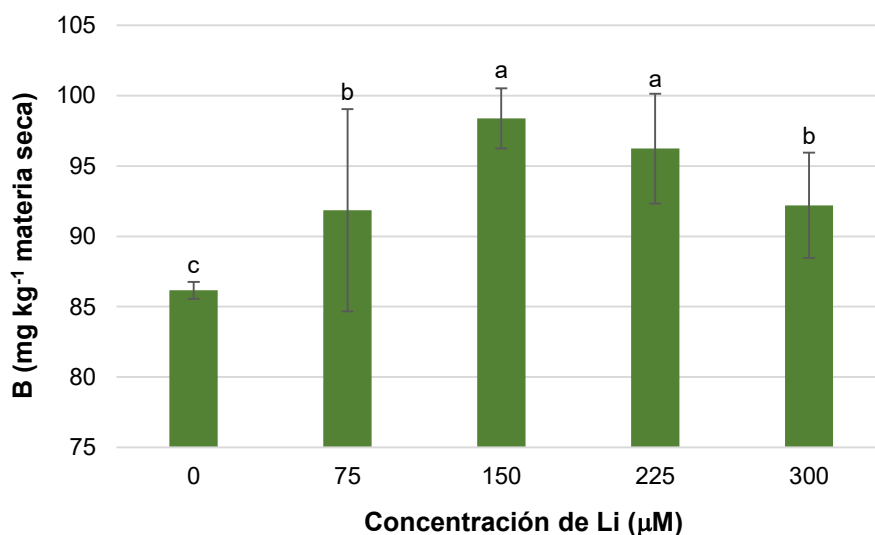


Figura 2. Concentración foliar de B (g kg⁻¹ de materia seca) en plantas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) tratadas con Li durante 28 d en función de la concentración. Medias $\pm$ DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Al analizar los efectos de los tratamientos resultantes de la combinación de los niveles de ambos factores de estudio, se observa que las dosis de 75, 150 y 225 μ M Li suministrado como LiCl tienen

las medias más altas. En específico, el tratamiento 150 μM LiCl supera en promedio a los tratamientos sin Li en 16.4% (Figura 3).

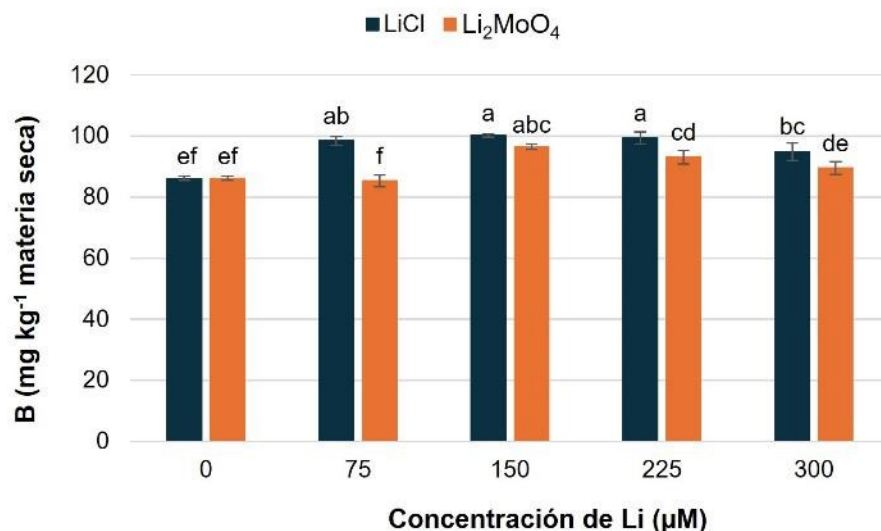


Figura 3. Concentración foliar de B (g kg^{-1} de materia seca) en plantas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) tratadas con Li durante 28 d en función de los tratamientos con LiCl y Li_2MoO_4 . Medias $\pm$ DE con letras distintas indican que existen diferencias estadísticas significativas (LSD, $P \leq 0.05$).

Se ha demostrado que el Li es fácilmente absorbido por las raíces de las plantas y trasladado a los brotes causando efectos benéficos cuando se aplica en bajas dosis (Naeem *et al.*, 2021). Los datos encontrados en esta investigación sugieren que la aplicación de Li estimula la concentración de B en plantas de chile. Aunque no está establecido ningún mecanismo de acción directamente con el B, se conoce que elementos esenciales como el Ca, K y Mg interactúan y compiten con el Li a través de la interacción con proteínas y biomoléculas (Bernard, 2015; Tanveer *et al.*, 2019).

CONCLUSIONES

El Li no es un elemento esencial en plantas superiores; los datos evidencian que, de manera general, el Li_2MoO_4 reduce la concentración de B; por el contrario, si el Li es suministrado a la solución nutritiva como LiCl a razón de 75 a 300 μM , incrementa de manera significativa la concentración foliar de B en plántulas de chile guajillo.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Bernard, "Lithium". In Handbook on the Toxicology of Metals. Nordberg, G. F., Fowler, B. A. & Nordberg, M. (Eds.). 4th ed. Volume 2. Elsevier. pp. 969–974. 2015.
2. A. Naeem, M. Aslam, K. H. Mühling, "Lithium: Perspectives of nutritional beneficence, dietary intake, biogeochemistry, and biofortification of vegetables and mushrooms". Science of The Total Environment, Vol. 798, 149249. 2021.
3. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture". Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633-650.
4. SAS Institute Inc, "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
5. G. Alcántar G., M. Sandoval V., "Manual de análisis químico de tejido vegetal". Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Publicación Especial No. 10 de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C., Chapingo, México.

6. H. Khaliq, Z. Juming & P. Ke-Mei. "The physiological role of boron on health". *Biological Trace Element Research*, Vol. 186, 2018, pp. 31–51.
7. J. Antonkiewicz, C. Jasiewicz, M. Koncewicz-Baran & R. Bączek-Kwinta, "Determination of lithium bioretention by maize under hydroponic conditions". *Archives of Environmental Protection*, Vol. 43, 4, 2017, pp. 94-104.
8. J. M. Maldonado, J. J. Camacho-Cristóbal, "Is boron involved solely in structural roles in vascular plants?", *Plant Signal Behavior*, Vol. 3, 1, 2008, pp. 24-26.
9. J. M. Tarascon, "Is lithium the new gold?" *Nature Chemistry*, Vol. 2, 510, 2010.
10. M. Brdar-Jokanović, "Boron Toxicity and Deficiency in Agricultural Plants", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 21, 4, 1424, 2020.
11. M. Kabu, M. S. Akosman. "Biological Effects of Boron". In: D. Whitacre (eds). *Reviews of environmental contamination and toxicology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Springer, New York, NY, 2013), Vol. 225, pp. 57-75.
12. M. Tanveer, M. Hasanuzzaman, L. Wang, "Lithium in environment and potential targets to reduce lithium toxicity in plants", *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 38, 2019, pp. 1574-1586.
13. O. I. Sobolev, B. V. Gutyj, L. M. Darmohray, S. V. Sobolieva, V. V. Ivanina, O. A. Kuzmenko, P. M. Karkach, V. F. Fesenko, V. V. Bilkevych, Y. O. Mashkin, A. M. Trofymchuk, R. V. Stavetska, S. V. Tkachenko, O. I. Babenko, N. I. Klopenko, & S. V. Chernyuk, "Lithium in the natural environment and its migration in the trophic chain". *Ukrainian Journal of Ecology*, Vol. 9, 2, 2019, pp.195-203.
14. S. Day, & M. Aasim, M. "Role of Boron in Growth and Development of Plant: Deficiency and Toxicity Perspective". In: Aftab, T., Hakeem, K.R. (eds) *Plant Micronutrients* (Springer, Cham. 2020), Chapter 19, pp. 435-452.
15. S. S. Kuloğlu, E. Yalçın, K. Çavuşoğlu & A. Acar, "Dose-dependent toxicity profile and genotoxicity mechanism of lithium carbonate". *Scientific Reports*, Vol. 12, 1, 13504, 2022.

EFFECTO DE LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL IN VITRO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS PROTEÍNAS DE CHICATANAS (*ATTA MEXICANA*)

Jesús Pérez-Lozada¹, Zulma T. Pérez-Hernández¹, Glorice Serena-Romero², César I. Beristain¹ y Elvia Cruz-Huerta¹

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91193, Xalapa, Veracruz, México.

²Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Veracruzana. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n, Industrial Ánimas, 91193, Xalapa, Veracruz, México.

RESUMEN

Los insectos comestibles, como las hormigas chicatanas (*Atta mexicana*), se distinguen por su elevado contenido proteico (30-65 %). Durante el proceso de digestión gastrointestinal, las proteínas sufren hidrólisis enzimática, liberando péptidos y aminoácidos que desempeñan un papel crucial en la salud humana ya que algunos poseen propiedades bioactivas como la capacidad antioxidante. Se ha descrito que péptidos con longitudes entre 2 y 20 aminoácidos, pueden retardar los procesos de oxidación o la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), implicadas en el deterioro de estructuras biológicas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* sobre la actividad antioxidante de hormigas comestibles chicatanas. Para evaluar estos efectos, se realizó una caracterización proximal del pulverizado de hormigas chicatanas de acuerdo con la metodología estandarizada por la AOAC (2005), seguido de la obtención de un concentrado de proteínas de chicatanas (CPC) mediante precipitación isoeléctrica. El CPC fue digerido de acuerdo con el protocolo de digestión *in vitro* INFOGEST. Se determinó el contenido de proteínas mediante el ensayo de ácido bicinónico (BCA) y la actividad antioxidante del CPC y sus productos de la digestión gástrica e intestinal se evaluó usando los métodos ABTS y DPPH. El análisis proximal del pulverizado de chicatanas mostró una composición de 4.18% $\pm$ 0.28 de humedad, 36.72% $\pm$ 0.37 de proteínas, 44.2% $\pm$ 0.52 de lípidos totales, 1.09% $\pm$ 1.09 de cenizas y 9.79% de carbohidratos. El rendimiento proteico del CPC alcanzó un 72% $\pm$ 1.23 a un pH de 11 y un punto isoeléctrico (pI) de 5. Los digeridos gastrointestinales presentaron una mayor inhibición en el ensayo DPPH (77.44% $\pm$ 0.28), seguidos por los digeridos gástricos (75.98% $\pm$ 0.17). Asimismo, los digeridos gastrointestinales mostraron mayor porcentaje de inhibición por el método ABTS (82.02% $\pm$ 0.62). Por lo que podemos concluir que la digestión gastrointestinal *in vitro* de las proteínas de chicatanas favorece la liberación de péptidos con potencial efecto antioxidante.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades no transmisibles (ENT) son la principal causa de mortalidad a nivel mundial, estas son responsables del 71% del total de las muertes en el mundo (Dicker *et al.*, 2018). Entre estas enfermedades, se encuentran la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), el cáncer, las enfermedades respiratorias y las enfermedades cardiovasculares, estas últimas representan aproximadamente el 80% de las muertes por ENT (Chikowore *et al.*, 2021). En México, las ENT tienen un impacto significativo en la salud pública ya que de acuerdo con datos de la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2017), son responsables de casi cuatro de cada cinco defunciones en el país (GOB. MX, 2021).

El estrés oxidativo y la inflamación crónica desempeñan un papel importante en el desarrollo de ENT como la diabetes mellitus tipo 2, osteoporosis, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis, arteriosclerosis, trastornos neurológicos, hepáticos, renales y cáncer ya que puede alterar diversas funciones fisiológicas en el organismo (Rajendran *et al.*, 2013). Por lo que el tratamiento y/o la prevención de dichas patologías es un punto central; sin embargo, los tratamientos farmacológicos empleados para disminuir y/o tratar dichas enfermedades suelen acompañarse de diversos efectos adversos, por lo que ha aumentado el interés de identificar compuestos naturales presentes en los alimentos con la capacidad de prevenir o revertir estados de estrés oxidativo e inflamación crónica.

Entre estos compuestos naturales destacan los péptidos bioactivos, los cuales han despertado el mayor interés. Durante la digestión gastrointestinal por medio de la acción de las enzimas digestivas y las peptidasas del borde en cepillo, las proteínas presentes en los alimentos se hidrolizan, liberándose numerosas secuencias peptídicas capaces de ejercer un determinado efecto o actividad biológica en el organismo, como actividad antihipertensiva, antioxidante, opioide, antitrombótica, hipocolesterolémica, anticancerígena, inmunomodulador, antimicrobiana, entre otras (Sanchón *et al.*, 2018).

Los insectos comestibles se consideran una valiosa fuente de proteínas, con un contenido proteico de hasta un 91% (Akhtar y Isman, 2018). El consumo de insectos como alimento ha sido una práctica común en muchas culturas durante siglos y actualmente se consumen en diferentes formas principalmente en África, Asia y América Latina. En México, se consumen alrededor de 549 especies de insectos (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018) entre ellas se encuentra la chicatana (*Atta mexicana*) la cual forma parte de la gastronomía mexicana (Escamilla *et al.*, 2012) y han sido utilizadas desde la época prehispánica como alimento, debido a su agradable y característico sabor; se consumen en diferentes platillos como moles, salsas, asadas, cajetas y hasta en helados, aunque principalmente se consumen en salsas (Sahagún, 1975). Estas hormigas comestibles se distinguen por su elevado contenido proteico (30-65%).

Durante la digestión gastrointestinal de las proteínas se liberan péptidos y aminoácidos que desempeñan un papel crucial en la salud humana ya que algunos poseen propiedades bioactivas como la capacidad antioxidante. Se ha descrito que péptidos con longitudes entre 2 y 20 aminoácidos, pueden retardar los procesos de oxidación o la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), implicadas en el deterioro de estructuras biológicas.

TEORÍA

Las propiedades antioxidantes de los péptidos están relacionadas con su composición, secuencia y estructura (Fernández-Tomé *et al.*, 2019), se caracterizan por la presencia de residuos aromáticos como triptófano, tirosina y fenilalanina y residuos hidrofóbicos como histidina, prolina, lisina, isoleucina, glicina y valina (Zou *et al.*, 2016). Por otro lado, los aminoácidos cisteína, triptófano, histidina, fenilalanina y tirosina actúan principalmente por transferencia de un solo electrón (Esfandi *et al.*, 2019). Se ha demostrado que los péptidos antioxidantes tienen un efecto protector frente a las ROS, contribuyendo a reducir el estrés oxidativo (Saenjum *et al.*, 2012).

Por lo tanto, la actividad antioxidante depende de las propiedades de las cadenas laterales de los aminoácidos. Además, la actividad antioxidante de los péptidos está influenciada por la secuencia en la que están dispuestos los aminoácidos y la configuración del péptido (Liu *et al.*, 2016).

Los péptidos antioxidantes pueden tener varios mecanismos para ejercer su acción antioxidante, pueden actuar como quelantes de un metal, en este caso los péptidos inhiben la producción de radicales libres estabilizando prooxidantes metálicos mediante agentes secuestrantes. Los grupos carboxilo y amino de las cadenas laterales tienen una función quelante de los iones metálicos debido a su capacidad para disociarse y ser donadores de protones (López-García *et al.*, 2022).

Otro mecanismo, es la inhibición de radicales, en este caso los péptidos estabilizan los radicales mediante la donación de electrones, manteniendo su propia estabilidad mediante la resonancia de su estructura. Algunos péptidos reportados son aquellos que contienen aminoácidos aromáticos como Tirosina, Histidina, Triptofano y Fenilalanina. En un ambiente oxidante donde están presentes lípidos insaturados, los péptidos activos son más propensos a donar electrones que los lípidos y forman radicales más estables o polímeros no reactivos a través de la condensación radical-radical (Mine *et al.*, 2010; Cian *et al.*, 2015).

El último mecanismo es la protección física, en esta los péptidos inhiben la peroxidación lipídica actuando como una barrera física o membrana. Son componentes surfactantes y pueden dividirse en la interfaz aceite-agua, formando una membrana gruesa o recubrimiento para evitar el contacto directo de lípidos y radicales con otros compuestos oxidantes (Saito *et al.*, 2003).

PARTE EXPERIMENTAL

Análisis proximal de la harina de chicatana

Las muestras fueron recolectadas en Huatusco, Veracruz, 19°08' 56" N 96°58' 03" O / 19.14876, -96.9676, durante los meses junio y julio de 2023, se limpiaron con agua destilada se liofilizaron y mantuvieron en congelación a -80 °C hasta su posterior uso.

Las muestras de chicatanas se limpiaron retirando sus extremidades (alas, patas y cabeza) manteniéndose la parte del abdomen de su cuerpo, posteriormente se lavaron con agua destilada y se asaron a 60 °C durante 15 minutos. Posteriormente fueron molidas y tamizadas empleando un tamiz de 500 µm. Las muestras fueron desgrasadas con hexano en una proporción (1:10 p/v).

Se empleo un molido pulverizador (ENCAMEX, MC-100), se tamizaron pasando por un tamiz de 500 µm. A este pulverizado se le realizó la caracterización proximal de acuerdo con la metodología estandarizada por la AOAC (2005) en donde se determinó la humedad, cenizas, contenido proteico, lípidos, fibra y carbohidratos.

Obtención del concentrado proteico de chicatanas

El concentrado proteico se obtuvo siguiendo la metodología descrita por Zhao *et al.* (2016), con algunas modificaciones.

Al pulverizado de chicatanas previamente desgrasado, se le agregaron 20 mL NaOH [0.25 M] por cada gramo de pulverizado y se colocó en una parrilla con agitación (Thermo scientific) a 50 °C por 50 minutos a 100 rpm. Después, las muestras se centrifugaron a 4500 g a 4 °C durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante y la capa de gel; se llevó a una segunda extracción del sedimento en las mismas condiciones. El sobrenadante y la capa de gel de ambas extracciones se recogieron juntos y se ajustó el pH a 5 con HCl 1 M a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugo a 4 °C durante 10 minutos a 4500 g. El sobrenadante y el precipitado se liofilizaron y almacenaron a -80 °C hasta su uso.

Digestión gastrointestinal *in vitro* de las proteínas de chicatanas

El concentrado de proteínas de chicatanas fue sometido a digestión *in vitro* de acuerdo con el protocolo de digestión *in vitro* desarrollado por INFOGEST (Brodikord *et al.*, 2019). Las enzimas y reactivos que se usaron en el proceso de la digestión gastrointestinal se adquirieron de Merck, Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA).

Brevemente, en la fase oral, el CPC se mezcló con fluido salival simulado (FSS) en una relación 1:1 p/v, se ajustó el pH 7, se añadió amilasa salival (75 U mL⁻¹) y se incubó haciendo uso de una incubadora (MIDSCI mini incubadora shaker) durante dos minutos a 37 °C con agitación (150 rpm). Para la fase gástrica se añadió fluido gástrico simulado, se ajustó el pH a 3 y se añadió pepsina de mucosa gástrica porcina (2000 U mL⁻¹) y se incubó con agitación (150 rpm) durante 2 horas. En la fase intestinal se añadió fluido intestinal simulado, bilis (10 mM), pancreatina (100 U mL⁻¹) y se incubó con agitación (150 rpm) a 37 °C y pH 7 durante 2 horas. Para detener la acción enzimática se añadió el inhibidor enzimático Pefabloc® SC (5 mM). Cada digestión se realizó por triplicado. Además, se preparó un blanco de digestión con una mezcla de enzimas usadas en las digestiones a la misma concentración sin el concentrado proteico. Finalmente, los digeridos gástricos e intestinales fueron ultrafiltrados empleando una membrana hidrofílica de 5000 kDa (Agilent Technologies, Inc., Waldbronn, Alemania). Las fracciones < 5 kDa y > 5 kDa fueron liofilizadas y almacenadas a -80 °C hasta su uso. El contenido proteico de los digeridos y las fracciones fue determinado por el método de ácido bicinoninico (BCA) (Pierce, Rockford, IL, USA), empleando albúmina de suero bovino como estándar.

Determinación de la actividad antioxidante

Inhibición del radical DPPH

La determinación de la actividad antioxidante mediante la inhibición del radical DPPH, se realizó de acuerdo con el protocolo de Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. En una placa de 96 pocillos se añadieron 20 μ L de las muestras y 180 μ L de DPPH (100 μ M) diluido en MeOH al 80% y se mantuvo en la oscuridad en temperatura ambiente durante 30 minutos. La absorbancia se midió a 517 nm en un lector de microplacas (BioTek® Synergy HT KC4, Winooski, Vermont, USA). Se realizó una curva de calibración de Trolox y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

Inhibición del radical ABTS

La evaluación de la actividad de captación de radicales libres ABTS se realizó según el método descrito por Re *et al.* (1999), con algunas modificaciones. El monocatiónico ABTS^{•+} se obtuvo tras la reacción de ABTS (7 Mm) con persulfato de potasio (2.45 Mm) que se mantuvo a temperatura ambiente (25 °C) durante 16 h en la oscuridad. El radical ABTS^{•+} se diluyó con Buffer de fosfato a pH 7.4 hasta obtener un valor de absorbancia de 0.70 ($\pm$ 0.01) a 734 nm. En una placa de 96 pocillos se añadieron 20 μ L de muestra y 180 μ L del radical ABTS^{•+} y se dejaron reaccionar durante 30 minutos en la oscuridad. La absorbancia se midió a 734 nm utilizando un lector de microplacas (BioTek® Synergy HT KC4, Winooski, Vermont, USA). Se realizó una curva de calibración de Trolox y los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición.

Análisis estadístico

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

RESULTADOS

Análisis proximal

Los resultados del análisis proximal de la chicatana se muestran en la Tabla 1. Donde se puede observar que la humedad tuvo un valor de 4.18 ± 0.28 %, en la muestra de chicatanas sin tratamiento térmico, el cual es similar a lo descrito por López-Morales *et al.* (2021) quienes informaron valores de 5.12% de humedad en chicatanas adultas recolectadas en la república mexicana; ambas determinaciones se realizaron en base seca. El contenido proteico fue de 36.72 % para la muestra sin tratamiento térmico, este valor es similar a lo reportado por Paniagua-Martínez *et al.* (2022) con 35.2% en chicatanas en etapa adulta, las cuales fueron recolectadas en el municipio de Puente Julia, Veracruz, esta similitud de valores puede deberse a que las muestras fueron recogidas en el mismo estado de la República Mexicana, por lo que se puede disminuir la variabilidad de su alimentación, haciéndola muy similar, además ambas muestras se encontraban en la etapa adulta. Respecto al contenido de lípidos se obtuvo un 44.2% en las chicatanas sin tratamiento térmico, valor superior a lo reportado por Melo-Ruiz *et al.* (2018), quienes registraron un 34.65% en muestras recolectadas en el estado de Oaxaca. Estas diferencias en la composición podrían deberse a factores como la ubicación geográfica donde se recolectaron las muestras, el tipo de flora que se encuentra en esa ubicación y de la cual las chicatanas se alimentan.

Para el parámetro de cenizas obtuvimos 1.09% en la muestra sin tratamiento térmico, lo que es similar a lo reportado por Barrios *et al.* (2022) donde reportan un valor de 1.05% en muestras de chicatanas adultas. Finalmente, el contenido de carbohidratos fue de 9.79 % lo que es diferente a lo reportado por Hurd *et al.* (2019) que indicaron valores de 30.82 ± 0.40 % en chicatanas adultas recolectadas en el estado de Oaxaca, México.

Esta diferencia podría deberse a que las muestras fueron recogidas en diferente estado de la República Mexicana y puede aumentar la variabilidad de su alimentación, viéndose afectada su composición proximal, teniendo una diferente distribución de macronutrientes.

Tabla I. Análisis proximal de chicatanas (<i>Atta mexicana</i>) sin tratamiento térmico liofilizadas	
Análisis	Porcentaje (%)
Humedad	4.18 ± 0.28
Proteína	36.72 ± 0.37
Lípidos	42.20 ± 0.52
Carbohidratos	9.79
Cenizas	1.09 ± 0.03

Los resultados de expresan como valores promedio ± desviación estándar de tres réplicas.

Obtención del concentrado proteico de chicatanas

La optimización de la extracción de las proteínas de chicatanas se muestra en la Tabla 2. Podemos observar que la precipitación con pl de 5.0 presentó la mayor extracción proteica, seguido de pl 5.5, siendo la extracción con pl 6.5 en donde se obtuvo la menor extracción (Tabla 2). Sin embargo, la extracción proteica con pl 4.4 obtuvo un contenido proteico de 51.21 % similar a lo reportado por Mintah *et al.* (2020) quienes indicaron un valor de 52.20% en concentrado proteico de larvas de mosca negra siguiendo la misma metodología. En proteínas de grillo el pl de 5.0 también fue el más alto obteniendo un 71.16 % de contenido proteico (Quinteros *et al.*, 2022).

Tabla II. Optimización de la extracción de proteínas de chicatanas (<i>Atta mexicana</i>)	
Punto isoeléctrico	Proteína (%)
6.5	5.15 ± 1.11
5.5	53.84 ± 0.60
5.0	72.00 ± 1.23
4.4	51.21 ± 0.79

Los resultados de expresan como valores promedio ± desviación estándar de tres réplicas.

Actividad antioxidante

Inhibición del radical DPPH

La mayor actividad antioxidante se presentó en la fracción intestinal > 5 kDa (92.21%), seguido de los digeridos intestinales (59.29 %) (Figura 1). De forma similar en hidrolizados proteicos de *Bombyx mori* la fracción de peso molecular entre 10 a 30 KDa inhibió 43.26% del radical, lo cual fue significativamente mayor que las demás fracciones Chukiatsiri *et al.* (2024). Además, Choi *et al.* (2023) evaluaron la actividad antioxidante por DPPH a los digeridos del concentrado proteico de *Protaetia brevitarsis*, obteniendo resultados en la fase oral del 12% de inhibición del radical, en la fase gástrica 19.3% y al término de la digestión gastrointestinal reportaron 30% de inhibición.

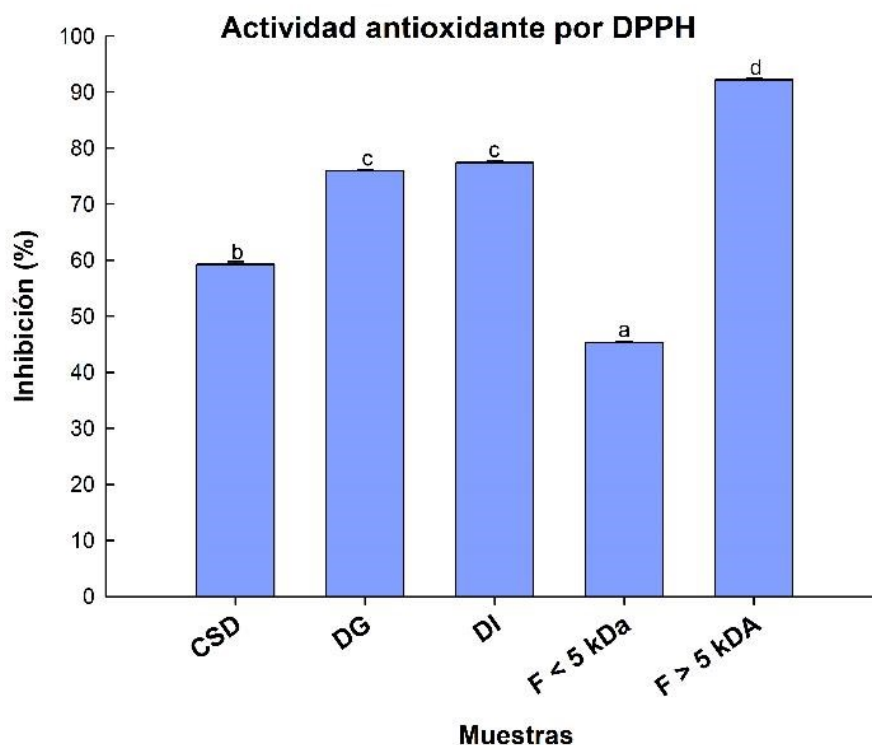


Figura 1. Efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* en las proteínas de chichatanas sobre la actividad antioxidante por DPPH: comparando entre el concentrado proteico sin digestión (CSD), Digestión Gástrica (DG), Digestión Intestinal (DI), Fracción intestinal < 5 kDa (F < 5 kDa) y Fracción intestinal > 5 kDa (F > 5 kDa). Se muestran los valores promedio ($\pm$ desviación estándar) obtenidos con ANOVA unifactorial y las letras sobre las barras indican diferencias estadísticas (Tukey).

Inhibición del radical ABTS

La mayor inhibición del radical ABTS se presentó en la fracción intestinal > 5 kDa (87%), seguido de los digeridos intestinales (82%) (Figura 2). Mientras que el concentrado proteico sin digerir inhibió en un 30 % al radical ABTS, lo que sugiere que la digestión gastrointestinal favorece la liberación de péptidos de menor peso molecular con capacidad de inhibir al radical ABTS ya que esto fue similar a lo encontrado por Flores *et al.* (2020) en proteínas de *Tenebrio molitor*, donde reportan valores de inhibición de 48% en concentrado proteico sin digerir y 100% en concentrado digerido. Además, De Matos *et al.* (2021) reportaron 100% de inhibición del radical ABTS en fracciones proteicas de *Gryllus assimilis* con peso molecular entre 5 a 10 kDa, lo que sugiere que péptidos con dicho peso molecular pueden inhibir al radical.

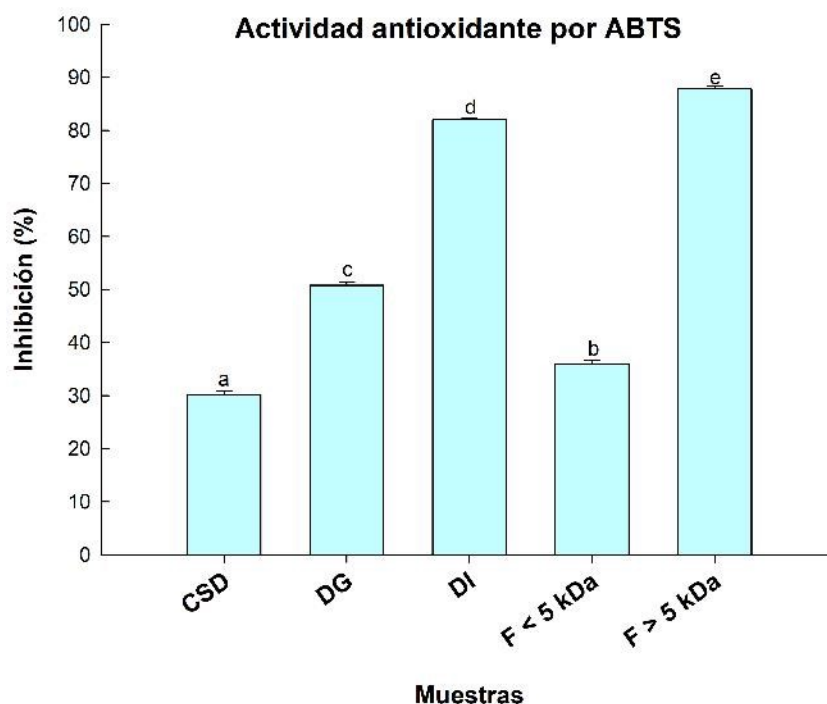


Figura 2. Efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* en las proteínas de chicatanas sobre la actividad antioxidante por ABTS: comparando entre el concentrado proteico sin digestión (CSD), Digestión Gástrica (DG), Digestión Intestinal (DI), Fracción intestinal < 5 kDa (F < 5 kDa) y Fracción intestinal > 5 kDa (F > 5 kDa). Se muestran los valores promedio ($\pm$ desviación estándar) obtenidos con ANOVA unifactorial y las letras sobre las barras indican diferencias estadísticas (Tukey).

CONCLUSIONES

La digestión gastrointestinal *in vitro* de proteínas de hormigas chicatanas favorece la liberación de péptidos con propiedades antioxidantes por lo que su consumo puede contribuir a la prevención del estrés oxidativo. Además, destacan por su alto valor nutricional y su potencial como ingredientes funcionales y nutracéuticos lo que contribuye a la exploración de nuevas fuentes alimenticias sostenibles, resaltando la importancia de los insectos comestibles en la promoción de la salud y el bienestar humano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dicker, D., Nguyen, G., Abate, D., Abate, K. H., Abay, S. M., Abbafati, C., Abbasi, N., Abbastabar, H., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abdel-Rahman, O., Abdi, A., Abdollahpour, I., Abdulkader, R. S., Abdurahman, A. A., Abebe, H. T., Abebe, M., Abebe, Z., Murray, C. J. L. (2018). Global, regional, and national age-sex-specific mortality and life expectancy, 1950–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*, 392(10159), 1684-1735. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)31891-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)31891-9)
2. Chikowore, T., Kamiza, A. B., Oduaran, O. H., Machipisa, T., & Fatumo, S. (2021). Non-communicable diseases pandemic and precision medicine: Is Africa ready? *EBioMedicine*, 65, 103260. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103260>
3. Rajendran, P., Rengarajan, T., Thangavel, J., Nishigaki, Y., Sakthisekaran, D., Sethi, G., & Nishigaki, I. (2013). The Vascular Endothelium and Human Diseases. *International Journal Of Biological Sciences*, 9(10), 1057-1069. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7502>

4. Sanchón, J., Fernández-Tomé, S., Miralles, B., Hernández-Ledesma, B., Tomé, D., Gaudichon, C., & Recio, I. (2018). Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry*, 239, 486-494. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.134>
5. Fernández-Tomé, S., Hernández-Ledesma, B., Chaparro, M., Indiano-Romacho, P., Bernardo, D., & Gisbert, J. P. (2019). Role of food proteins and bioactive peptides in inflammatory bowel disease. *Trends In Food Science & Technology*, 88, 194-206. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.017>
6. Zou, T., He, T., Li, H., Tang, H., & Xia, E. (2016). The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 21(1), 72. <https://doi.org/10.3390/molecules21010072>
7. Saenjum, N. C. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activities of gamma-oryzanol rich extracts from Thai purple rice bran. *Journal Of Medicinal Plant Research*, 6(6). <https://doi.org/10.5897/jmpr11.1247>
8. Liu, R., Xing, L., Fu, Q., Zhou, G., & Zhang, W. (2016). A Review of Antioxidant Peptides Derived from Meat Muscle and By-Products. *Antioxidants*, 5(3), 32. <https://doi.org/10.3390/antiox5030032>
9. López-García, G., Dublan-García, O., Arizmendi-Cotero, D., & González-Olivan, L. M. (2022b). Antioxidant and Antimicrobial Peptides Derived from Food Proteins. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 27(4), 1343. <https://doi.org/10.3390/molecules27041343>
10. Mine, Y., & Li-Chan, E. (2010). Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals. <http://www.gbv.de/dms/bs/toc/617716471.pdf>
11. Saito, K., Jin, D. H., Ogawa, T., Muramoto, K., Hatakeyama, E., Yasuhara, T., & Nokihara, K. (2003). Antioxidative Properties of Tripeptide Libraries Prepared by the Combinatorial Chemistry. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51(12), 3668-3674. <https://doi.org/10.1021/jf021191>
12. Cian, R. E., Drago, S. R., De Medina, F. S., & Martínez-Augustin, O. (2015). Proteins and Carbohydrates from Red Seaweeds: Evidence for Beneficial Effects on Gut Function and Microbiota. *Marine Drugs*, 13(8), 5358-5383. <https://doi.org/10.3390/md13085358>
13. Gob.mx. Recuperado el 8 de mayo de 2023, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/745354/PanoEpi_ENT_Cierre2021.pdf.
14. Salud en las Américas 2017. (s/f). OPS.org. Recuperado el 8 de mayo de 2023, de <https://www.paho.org/salud-en-las-americas-2017/ro-noncommunicable-es.html>.
15. Akhtar, Y., & Isman, M. B. (2018). Insects as an alternative protein source. In *Proteins in food processing* (pp. 263-288). Woodhead Publishing.
16. Escamilla-Prado, E., Escamilla-Femat, S., Gómez-Utrilla, JM, Tuxtla Andrade, M., Ramos-Elorduy, J., & Pino-Moreno, JM (2012). Uso tradicional de tres especies de insectos comestibles en agroecosistemas cafetaleros del estado de Veracruz. *Agroecosistemas tropicales y subtropicales*, 15 (2), S101-S109.
17. Sahagún, F. (1975). *Código Florentino*, Ed. Facsimilar Ed. Archivo General de la Nación, Libro XI pp. 221-261
18. Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R., & Langton, M. (2016). Yellow Mealworm Protein for Food Purposes - Extraction and Functional Properties. *PloS One*, 11(2), e0147791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147791>
19. Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Feunteun, S. L. . . . Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
20. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie/Food Science & Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)
21. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free*

- Radical Biology & Medicine, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
22. Lopez-Morales, V., Ariza-Ortega, J., Díaz-Reyes, J., Castañeda-Antonio, D., Ramos-Cassellis, M., Ariza-Ortega, T., Ramirez-Moreno, E., & Cruz-Cansino, N. (2021). Proximal chemical evaluation and fatty acid in the chichatana ant and jumile. *Journal Of Insects As Food And Feed*, 7(2), 197-204. <https://doi.org/10.3920/jiff2020.0030>
23. Paniagua-Martínez, I., Morales-Trejo, F., Rendón-Martínez, A., Gallardo-López, F., & Ramírez-Martínez, A. (2022). Acceptance and physicochemical properties of raw and roasted ants (*Atta mexicana*). *Journal Of Insects As Food And Feed*, 8(1), 65-74. <https://doi.org/10.3920/jiff2020.0168>
24. Morales, M. L. B., García, X. P. P., Salazar, R., & Astudillo, Y. I. M. (2022). Análisis físico y químico proximal, de tres especies de insectos comestibles en Guerrero, México. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 8(1), 1-8.
25. Hurd, K. J., Shertukde, S. P., Toia, T., Trujillo, A., Pérez, R. L., Larom, D. L., Love, J. J., & Liu, C. (2019a). The Cultural Importance of Edible Insects in Oaxaca, Mexico. *Annals Of The Entomological Society Of America*, 112(6), 552-559. <https://doi.org/10.1093/aesa/saz018>
26. Mintah, B. K., He, R., Agyekum, A. A., Dabbour, M., Golly, M. K., & Ma, H. (2020). Edible insect protein for food applications: Extraction, composition, and functional properties. *Journal Of Food Process Engineering*, 43(4). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13362>
27. Quinteros, M. F., Martinez, J. I., Barrionuevo, A., Rojas-Herrera, M., & Carrillo, W. (2022). Functional, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Properties of Cricket Protein Concentrate (*Gryllus assimilis*). *Biology*, 11(5), 776. <https://doi.org/10.3390/biology11050776>
28. Choi, J. S., Kim, G. H., Kim, H. E., Kim, M. J., & Chin, K. B. (2023). Evaluation of Protein Digestibility and Antioxidant Activity in an In Vitro Digestion Model of Proteins Extracted from *Protaetia brevitarsis* Larvae and *Tenebrio molitor* Larvae. *Han'gug Sigpum Yeong'yang Gwahag Hoeji/Journal Of The Korean Society Of Food Science And Nutrition*, 52(11), 1125-1132. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2023.52.11.1125>
29. Melo-Ruiz, V., Vilchis-Pérez, A. and Sánchez-Herrera, K., 2018. Macronutrient composition of the Chichatana ant (*Atta mexicana*), edible insect during the rainy season in Mexico. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering* 8(6): 437-440. <https://doi.org/10.15406/jnhfe.2018.08.00306>
30. Chukiatsiri, S., Wongsrangsap, N., Kiatwuthinon, P., & Phonphoem, W. (2024). Purification and identification of novel antioxidant peptides derived from *Bombyx mori* pupae hydrolysates. *Biochemistry And Biophysics Reports*, 38, 101707. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2024.101707>
31. Flores, D. R., Casados, L. E., Velasco, S. F., Ramirez, A. C. M., & Velázquez-Juárez, G. (2020). Comparative study of composition, antioxidant and antimicrobial activity of two adult edible insects from Tenebrionidae family. *BMC Chemistry*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00707-0>
32. De Matos, F. M., Novelli, P. K., & De Castro, R. J. S. (2021). Enzymatic hydrolysis of black cricket (*Gryllus assimilis*) proteins positively affects their antioxidant properties. *Journal Of Food Science*, 86(2), 571-578. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15576>

USO DE NANOPARTICULAS DE ORO EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH) A PARTIR DE MUESTRAS CERVICALES

Leslie Susana Arcila Lozano^{1,2}, Elda Carreón Moreno³, Arturo Aparicio Rebollar⁵, Jorge Antonio Yáñez Santos³, José Sergio Tecpanecatl Xihuitl³, Luis Ramiro Caso Vargas⁴, Samantha Michelle Lima Galupina⁴, Adrián Armando Leal Rivera⁵.

¹Instituto Politécnico Nacional-Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada Unidad Tlaxcala,

²Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías,

³Centro de Detección Biomolecular, ⁴Facultad de Ciencias Biológicas, ⁵Licenciatura en Biotecnología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,

larcila@conahcyt.mx;elda.carreon@correo.buap.mx

RESUMEN

Las infecciones de transmisión sexual, como el virus del papiloma humano (VPH), son un tema de importancia global en donde un diagnóstico preciso representa para los profesionales de la salud una oportunidad para el diseño de un tratamiento que mejor le convenga al paciente buscando su bienestar y evitar una complicación médica futura. El aumento de la sensibilidad en los análisis basados en la amplificación genética permite generar pruebas diagnósticas más eficaces y eficientes. La PCR ofrece un mayor grado de confianza respecto a los resultados que se obtienen, esto en comparación con técnicas convencionales. Aunque esta es una herramienta muy robusta hoy en día tiene dificultades técnicas, como una baja especificidad, sensibilidad y resultados falsos negativos. Se ha descrito que los materiales nanoestructurados como las nanopartículas metálicas de oro favorecen la sensibilidad y especificidad de amplificación de fragmentos de interés, aumentan el rango de temperaturas de alineamiento, disminuyen la concentración y uso de reactivos como la DNA polimerasa por su fuerte adsorción con el nanomaterial mejorando la eficiencia. Para este estudio se trabajaron con muestras de ADN de exudados cervicales de pacientes captadas en Centro de Detección Biomolecular (BUAP) para el diagnóstico de VPH mediante la amplificación por PCR punto final del gen L1 del virus (450pb) y para garantizar la integridad del ADN de las muestras clínicas se amplifica el gen endógeno β -globina (268pb). Para evaluar la eficiencia de las AuNPs, se realizaron una serie de diluciones de estas partiendo de un stock y se adicionaron de manera individual a la mezcla de reacción de las PCR anteriormente mencionadas verificando la amplificación de los fragmentos respectivos en geles de agarosa al 2%. Las nanopartículas de oro fueron sintetizadas mediante la técnica de reducción con citrato de sodio o Método Turkevich. Se caracterizaron y cuantificaron por espectrofotometría Uv/Vis a través del análisis del plasmón superficial a 521nm. Dentro de los resultados obtenidos en el proceso de amplificación del gen endógeno de la β -globina se pudo lograr una reducción en el tiempo de ejecución de 3 horas 52 minutos a 2 horas 22 minutos disminuyendo los ciclos (de 45 a 35) sin afectar el resultado, esto es importante en el diagnóstico para dar continuidad al proceso de detección. La conductividad térmica del nanomaterial puede mejorar la velocidad de ascenso de temperatura y enfriamiento del sistema lo cual se ve traducido en la reducción del tiempo de la reacción. También se pudo observar que al adicionar las nanopartículas de oro en la reacción de PCR éstas favorecieron la amplificación del gen β -globina en muestras con concentraciones de ADN muy bajas (menores a 5ng/ μ l) en las cuales sin este sistema se ve disminuida. Los resultados preliminares obtenidos en este trabajo demuestran que el uso del sistema Nano-PCR mejoro la sensibilidad y el tiempo de reacción en el proceso de detección del gen endógeno de la β -globina, que es un control que determina la calidad e integridad del ADN obtenido a partir de muestras cervicales.

INTRODUCCIÓN

La infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH) es la infección viral de transmisión sexual más frecuente. La infección por VPH es muy contagiosa con tasas de transmisión que pueden alcanzar el 66%, ligeramente más elevadas en el sentido mujer-varón que en el inverso. La duración de incubación media es de unos 3 meses, pero puede llegar a los 10 años, lo que dificulta identificar el

periodo de exposición. La infección persistente de la mucosa cervical por el VPH constituye una condición necesaria para el desarrollo del cáncer del cuello uterino y de sus lesiones precancerosas (1).

Los VPH pertenecen a la familia *Papillomaviridae*, son virus constituidos por una cápside icosaédrica de 45-55nm de diámetro formada por 72 capsómeros. El genoma viral está constituido por alrededor de 8,000 pares de bases y consiste en una molécula de ADN circular bicatenario, del que solo una hebra es codificante y consta de tres regiones: la región precoz (E), que codifica proteínas no estructuradas (E1 a E7), como las oncoproteínas, la región tardía (L) que codifica proteínas de la cápside (L1 y L2) y una región no codificante de regulación. Los VPH poseen una especificidad de huésped muy estrecha, se han descubierto más de 170 genotipos en el humano. Se distribuyen en distintos tipos filogenéticos según su porcentaje de concordancia nucleotídica y de su tropismo cutáneo o mucoso. Entre los 40 tipos de tropismo genital, 15 son oncógenos (de alto riesgo), causantes de neoplasias y cánceres de cuello uterino, pero también de cáncer de ano, de la vulva y de la región otorrinolaringológica. Con independencia de la región geográfica, los VPH 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 y 58 son los ocho tipos que se encuentran con más frecuencia en las lesiones precancerosas y en los cánceres de cuello uterino. En todo el mundo, la infección por el tipo 16 es la más frecuente (2).

Los análisis basados en la amplificación genética permiten generar pruebas diagnósticas más eficaces y eficientes. La PCR ofrece un mayor grado de confianza respecto a los resultados que se obtienen con técnicas convencionales. Sin embargo, la técnica de PCR sigue viéndose frecuentemente perjudicada por su baja especificidad, sensibilidad y resultados falsos negativos, especialmente en fragmentos ricos en GC. Por lo tanto, es muy importante desarrollar nuevas tecnologías para mejorar la eficiencia de amplificación y la especificidad de la PCR (3).

Los materiales nanoestructurados como las nanopartículas metálicas de oro favorecen la sensibilidad y especificidad de amplificación de fragmentos de interés a esta metodología se le conoce como Reacción en Cadena de la Polimerasa Asistida por Nanopartículas o Nano PCR, los nanomateriales aumentan el rango de temperaturas de alineamiento, disminuyen la concentración y uso de reactivos como la DNA polimerasa por su fuerte adsorción con el nanomaterial mejorando la eficiencia, además poseen una gran afinidad por cada una de las bases del material genético. Otra ventaja de su uso es que la conductividad térmica de este material puede mejorar la velocidad de ascenso de temperatura y enfriamiento del sistema lo cual se ve traducido en la reducción del tiempo de la reacción (4). El objetivo de este trabajo es implementar el uso de las nanopartículas de oro en la técnica diagnóstica de la PCR para la identificación genética del VPH a partir de muestras de exudados de cervicales.

PARTE EXPERIMENTAL.

Síntesis y caracterización de las nanopartículas de oro. Las nanopartículas de oro (AuNPs) fueron sintetizadas por reducción química del ácido cloroáurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) utilizando como agente reductor y estabilizante al citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). El tamaño de las nanopartículas de oro sintetizadas por este método es de aproximadamente 15nm. Se preparó una solución al 4% de HAuCl_4 (0.4M) y se adicionaron 0.5ml a 200ml de agua desionizada llevándose a ebullición con agitación constante, enseguida se adicionaron 3ml de una solución de citrato de sodio al 1% (0.06M). La reacción se mantuvo en reflujo por 30 minutos. La reacción de síntesis de nanopartículas de oro por citrato reducción presenta una coloración que se aprecia a simple vista, al inicio es incolora pero conforme transcurre el tiempo adquiere tonalidades que van desde el gris pasando por el morado hasta el color final rojo rubí. Posteriormente la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se transfirió a tubos Falcón, se centrifugaron a 9,000 rpm por 50min a una temperatura de 5°C. Se separó el sobrenadante y fue desechado. Se resuspendió el precipitado de nanopartículas de oro en 5ml de agua desionizada estéril y se mantuvieron en refrigeración a 4°C protegidas de la luz hasta su uso. Las soluciones coloidales sintetizadas fueron caracterizadas individualmente por espectrometría empleando un equipo UV/Vis Evolution 201 (Thermo Scientific™). Se hizo un barrido que comprendió un intervalo de longitud de onda entre los 300-800nm con una resolución de 1nm. Posterior a la síntesis se tomó una alícuota de 1ml y se midió su absorbancia utilizando una celda de cuarzo con paso óptico de 1cm (Agilent). La resonancia del plasmón superficial (SPR, por sus

siglas en inglés, *surface plasmon resonance*) es visible como una banda de absorbancia bien definida cercana a 521nm, característica de coloides monodispersos. El tamaño (d) y concentración (N) de las nanopartículas de oro fueron calculados a partir de las ecuaciones descritas por Haiss et al. 2007 (5).

Extracción de ADN viral. Para este estudio se trabajó con ADN de muestras de exudados cervicales obtenidas de pacientes captadas en Centro de Detección Biomolecular (BUAP) para el diagnóstico de VPH. La extracción y purificación del ADN de las muestras se realizó con el kit comercial High Pure PCR Template (Roche®), el proceso se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, la concentración y calidad de la extracción se evaluó en un nano fotómetro de la marca IMPLEN. La integridad del ADN extraído se verificó con la amplificación del fragmento de 268 pb del gen β -globina (control de extracción, CE) por PCR punto final, con los primers PCO4 y GH20. Para la detección de VPH se utilizaron los primers MY09 y MY11 los cuales amplifican un fragmento de 450 pb sobre el gen L1 del virus (6).

Reacción en cadena de la polimerasa asistida por nanopartículas. El ensayo de Nano PCR se realizó de manera separada para optimizar la amplificación del gen beta globina (CE) y disminuir el tiempo de ejecución de esta reacción, además en la optimización de la amplificación de la detección de VPH. Las reacciones de PCR fueron realizadas en un volumen final de 20 μ L el cual contenía 10 μ L de DreamTaq Green PCR Máster Mix (2X) de ThermoFisher, 0.5 μ L de cada primer (10 μ M), 2 μ L de templado (ADN). Las condiciones de amplificación de la PCR fueron: 95°C durante 2 min; 45 ciclos de 95°C por 30 s, 58°C por 30 s y 72°C por 90 s; y una extensión final a 72°C por 10 min en el termociclador Labnet™ (Termociclador MultiGene™ OptiMax). Los ensayos de nanoPCR fueron ejecutados con el mismo protocolo de los convencionales además de la adición de 0.5 μ L de AuNPs del stock y las diluciones obtenidas. Para conocer la concentración mínima necesaria de AuNPs que favoreciera la amplificación, se realizaron diluciones seriadas a partir de una solución stock (4.342×10^{12} partículas/mL) hasta la dilución 6 (6.7×10^4 partículas/ mL). En la optimización de la amplificación del CE y VPH con la NanoPCR, se trabajaron muestras de ADN con concentraciones menores a 5 ng/ μ L, las cuales se amplificaron de manera separada con el stock de las AuNPs y cada una de las diluciones y sin las mismas. Para evaluar la eficacia del sistema de nanoPCR en la disminución del tiempo de ejecución en el proceso amplificación de PCR del gen β -globina, se redujeron ciclos en la programación del termociclador, de 45 a 35 ciclos y se experimentó con cada una de las reacciones de PCR convencional y con NanoPCR. Los productos amplificados de las diferentes reacciones se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados en la fotodocumentador 212 Pro (Carestream).

RESULTADOS

La estandarización de nuevos protocolos de PCR punto final asistidos con Nanopartículas de oro para el diagnóstico molecular es necesaria debido a que los métodos convencionales demandan demasiado tiempo por el procesamiento complejo de muestras, la capacidad del equipo en sus ciclos de temperatura para calentamiento y enfriamiento lo cual lo puede hacer lento y por ende la obtención específica de fragmentos de PCR de interés.

Las nanopartículas de oro fueron sintetizadas mediante la técnica de reducción con citrato de sodio o Método Turkevich. Se caracterizaron y cuantificaron por espectrofotometría UV/Vis a través del análisis del plasmón superficial a 521nm (Figura 1). Para evaluar la eficiencia de las AuNPs, se realizaron una serie de diluciones de estas partiendo de un stock y se adicionaron de manera individual a la mezcla de reacción de las PCR verificando la amplificación de los fragmentos respectivos en geles de agarosa al 2% El uso de AuNPs del Stock en las reacciones de PCR realizadas para la detección del gen endógeno β -globina inhiben la amplificación de los fragmentos de interés (Figura 2C, carril 2), sin embargo, al trabajar con las diluciones seriadas se observa que estas favorecen el resultado de amplificación (Figura 2A, carriles 19 y 20; Figura 2B, carriles 6 y 7; Figura 2C, carriles 4 y 5). Dentro de los resultados obtenidos en el proceso de amplificación del gen endógeno de la β -globina se pudo lograr una reducción en el tiempo de ejecución de 3 horas 52 minutos a 2 horas 22 minutos disminuyendo los ciclos (de 45 a 35) sin afectar el resultado, esto es

importante en el diagnóstico para dar continuidad al proceso de detección. La conductividad térmica del nanomaterial puede mejorar la velocidad de ascenso de temperatura y enfriamiento del sistema lo cual se ve traducido en la reducción del tiempo de la reacción (Figura 3). También se pudo observar que al adicionar las nanopartículas de oro en la reacción de PCR éstas favorecieron la amplificación del gen β -globina en muestras con concentraciones de ADN muy bajas (menores a 5ng/ μ l) en las cuales sin este sistema se ve disminuida (Figura 4). El uso de AuNPs del stock en las reacciones de PCR realizadas para la detección de VPH inhiben la amplificación en la amplificación de la PCR del gen L1 (VPH), pero al emplear las diluciones seriadas de AuNPs se observa que favorecen la amplificación del fragmento de interés, 450pb (Figura 5, carriles 4,5,6).

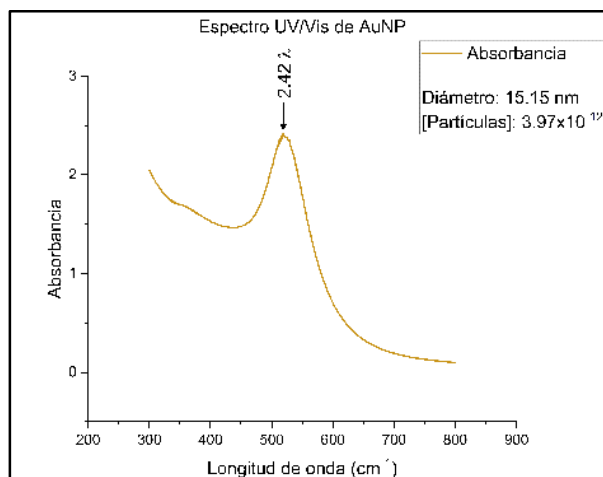


Figura 1. Espectro UV/Vis de la banda del plasmón superficial de las AuNPs. La SPR se localiza a una longitud de onda máxima de 521 nm. Se estimaron el tamaño y la concentración de las nanopartículas mediante las ecuaciones propuestas por Haiss *et al.* 2007.

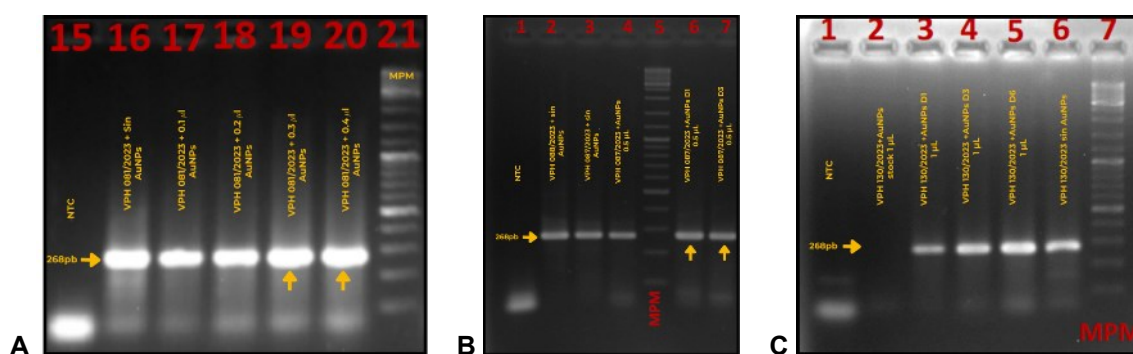


Figura 2. Efecto de la concentración de las AuNPs en la amplificación del control de extracción β -Globina. Electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio.

Figura 2A. Carril 15: NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carril 16:** Producto de PCR sin el uso de AuNPs (280pb). **Carriles 17-20:** Productos de PCR con el uso de AuNPs a diferentes concentraciones 4×10^{10} , 8×10^{10} , 1.3×10^{11} , 1.7×10^{11} partículas/mL respectivamente. **Carril 21:** Marcador de peso molecular (MPM) (GeneRuler DNA Ladder Mix 100pb-10000pb).

Figura 2B. Carril 1: NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carriles 2 y 3:** Productos de PCR sin el uso de AuNPs. **Carril 4:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 2×10^{11} partículas/mL. **Carril 5:** MPM. **Carril 6:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 1×10^{10} partículas/ μ L. **Carril 7:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 2×10^7 partículas/mL.

Figura 2C. Carril 1: NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carril 2:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 4×10^{11} partículas/mL. **Carril 3:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 2×10^{10} partículas/mL. **Carril 4:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 5×10^7 partículas/mL. **Carril 5:** Producto de PCR con el uso de AuNPs a 6000 partículas/mL. **Carril 6:** Producto de PCR sin el uso de AuNPs. **Carril 7:** MPM.

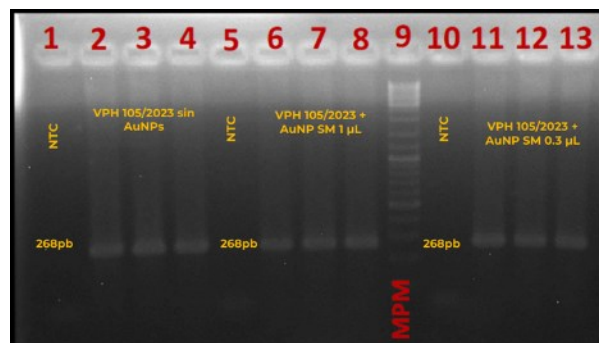


Figura 3. Efecto de las AuNPs en la reducción en el número de ciclos de la PCR en la amplificación del control de extracción β -Globina. Electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Se redujeron 10 ciclos, de 45 a 35 ciclos, lo que se traduce en 3:52 horas a 2:22 horas. **Carril 1:** NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carriles 2-4:** Productos de PCR sin el uso de AuNPs. **Carril 5:** NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carriles 6-8:** Productos de PCR con el uso de AuNPs a 7×10^7 partículas/mL. **Carril 9:** MPM. **Carril 10:** NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carril 11-13:** Productos de PCR con el uso de AuNPs a 2×10^7 partículas/mL.

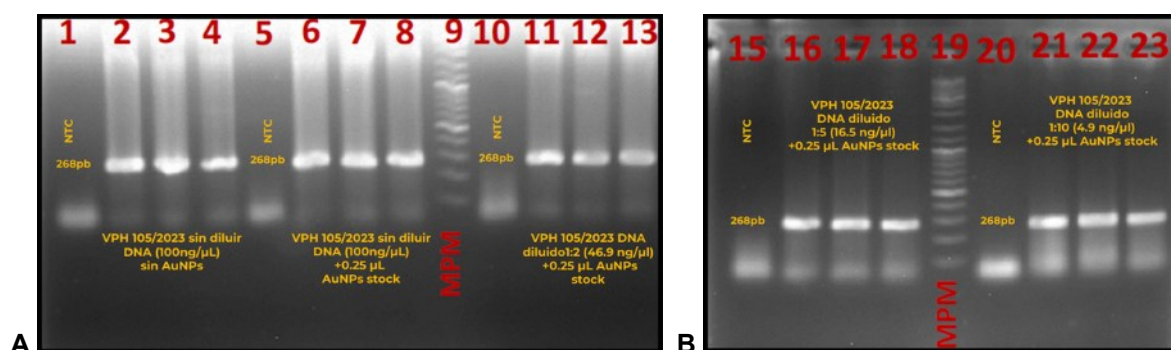


Figura 4. Efecto de las AuNPs empleando bajas concentraciones de DNA del control de extracción β -Globina. Electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio.

Figura 4A. Carriles 1,5,10: NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carriles 2,3,4:** Productos de PCR sin DNA diluido (0 ng/ μ L) y sin el uso de AuNPs. **Carriles 6,7,8:** Productos de PCR sin DNA diluido (100 ng/ μ L) + AuNPs a una concentración de 1×10^{11} partículas/ μ L. **Carril 9:** MPM. **Carriles 11,12 y 13:** Productos de PCR DNA diluido 1:2 (46.9 ng/ μ L) + AuNPs a una concentración de 1×10^{11} partículas/mL.

Figura 4B. Carriles 15 y 20: NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carriles 16, 17 y 18:** Productos de PCR DNA diluido 1:5 (16.5 ng/μl) + AuNPs a una concentración de 1×10^{11} partículas/mL. **Carril 9:** MPM. **Carriles 21,22 y 23:** Productos de PCR DNA diluido 1:10 (4.99 ng/μl) + AuNPs a una concentración de 1×10^{11} partículas/mL.

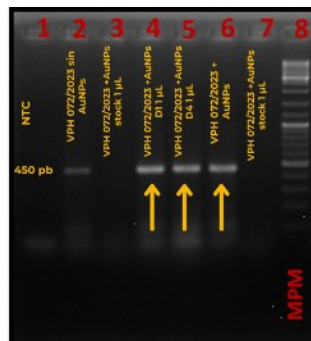


Figura 5. Efecto de la concentración de las AuNPs en la amplificación de la PCR del gen L1 (VPH). **Carril 1:** NTC (Mezcla de reacción sin templado). **Carril 2:** Producto de PCR sin el uso de AuNPs. **Carril 3:** Producto de PCR + AuNPs 2.8×10^{11} partículas/mL. **Carril 4:** Producto de PCR + AuNPs 1.4×10^{10} partículas/mL. **Carril 5:** Producto de PCR + AuNPs 1.8×10^7 partículas/mL. **Carril 6:** Producto de PCR + AuNPs 1×10^6 partículas/mL. **Carril 7:** Producto de PCR + AuNPs 2.8×10^{11} partículas/mL. Carril 8: MPM.

CONCLUSIONES

La adición de las nanopartículas de oro en la reacción de PCR punto final favoreció la amplificación del gen endógeno de la β -Globina, así como el gen de VPH L1. Se logró una reducción en el tiempo de ejecución de 3 horas 52 minutos a 2 horas 22 minutos disminuyendo los ciclos de 45 a 35, sin afectar el resultado en el proceso de amplificación del gen endógeno de la β -Globina, la conductividad térmica del nanomaterial puede mejorar la velocidad de ascenso de temperatura y enfriamiento del sistema lo cual se ve traducido en la reducción del tiempo de la reacción. La adición de las nanopartículas de oro en la reacción de PCR favoreció la amplificación del gen β -globina en muestras con concentraciones de ADN muy bajas, menores a 5ng/uL, en las cuales sin este sistema se ve disminuida. Los resultados preliminares obtenidos en este trabajo demuestran que el uso del sistema Nano-PCR mejoro la sensibilidad y el tiempo de reacción en el proceso de detección del gen endógeno de la β -Globina, que es un control que determina la calidad e integridad del ADN obtenido a partir de muestras cervicales; así mismo la amplificación por PCR del gen L1 de VPH fue favorecida mediante el sistema de Nano-PCR.

BIBLIOGRAFÍA

1. J.J. Baldauf, *et al.* Neoplasias intraepiteliales del cuello uterino. EMC-Ginecología-Obstetricia. Vol. 49. No.3. 2013.
2. Ma X, *et al.* Development of a sensitive and specific nanoparticle-assisted PCR assay for detecting HPV-16 and HPV-18 DNA. J Med Virol. 2020. 92: 3793–3798.
3. Mahdis Sadat Tabatabaei, *et al.* Applications of gold nanoparticles in ELISA, PCR, and immuno-PCR assays: A review, Analytica Chimica Acta. 2021. 1143. 250-266. <https://doi.bibliotecabuap.elogim.com/10.1016/j.aca.2020.08.030>
4. Yuan Su, *et al.*, Insight into the nanomaterials enhancement mechanism of nucleic acid amplification reactions. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2021. Vol. 137.
5. Haiss, W., *et al.*, Analytical Chemistry. 2007. 79 (11). 4215-4221.
6. Weimin Qu, *et al.*, PCR Detection of Human Papillomavirus: Comparison between MY09/MY11 and GP51/GP61 Primer Systems. J. of Clinical Microbiology. 1997. Vol. 35. No. 6.

ABSORCIÓN Y USO DEL NITRATO EN COL BAJO ESTRÉS SALINO Y DISTINTOS NIVELES DE AZUFRE EN LA SOLUCIÓN NUTRITIVA

Fresia Pacheco-Sangerman^{1*}, María Guadalupe Peralta-Sánchez¹, Fernando C. Gómez-Merino², Gabriel Alcántar-González¹, Libia I. Trejo-Téllez¹

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología, Texcoco, Estado de México. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Fisiología Vegetal, Texcoco, Estado de México. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado de México, México. C. P. 56264
pacheco.fresia@colpos.mx

RESUMEN

La salinidad es una de las principales limitantes para la producción de cultivos al causar estrés tanto iónico como osmótico en células vegetales. El estrés antes referido explica en gran medida el desequilibrio en la absorción, transporte y asimilación de elementos esenciales como el nitrógeno (N). La principal fuente de N para plantas superiores es el nitrato (NO_3^-); ion que una vez absorbido debe ser reducido a amonio (NH_4^+) por las enzimas nitrato reductasa (NR) en citosol y nitrato reductasa (NiR) en cloroplastos, para poder incorporarse a la estructura de biomoléculas como los aminoácidos. Se ha reportado que el azufre (S) puede mitigar efectos negativos de la salinidad, específicamente aquellos relacionados con la absorción y uso de nutrimentos; por tanto, este estudio evaluó diferentes dosis de sulfato (SO_4^{2-}) en la concentración de NO_3^- en vástagos de col (*Brassica oleracea* cv. Royal). Para ello, se condujo un experimento factorial 3×3 [NaCl (0, 75 y 150 mM) x SO_4^{2-} (3.50, 4.25 y 5.0 mM)]. Cada uno de los nueve tratamientos tuvo cuatro réplicas. Después de 40 d de tratamiento, se determinaron en vástago las concentraciones y contenidos de NO_3^- . El análisis de varianza realizado con el programa SAS, indicaron efectos principales e interactivos significativos; por tanto, se hicieron pruebas de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$) entre tratamientos (interacción de factores de estudio). Los resultados muestran que, en plantas sin estrés salino, las dosis incrementales de SO_4^{2-} , redujeron la concentración y contenido de NO_3^- ; lo cual refleja su utilización. Por otro lado, bajo estrés salino inducido por 75 mM NaCl se observó el efecto contrario; es decir, mayores concentraciones y contenidos de NO_3^- con las dos dosis más altas de SO_4^{2-} evaluadas. Asimismo, no hubo efecto significativo de las dosis de SO_4^{2-} en la concentración y en el contenido de NO_3^- cuando se tuvo el mayor nivel de salinidad (150 mM NaCl).

INTRODUCCIÓN

La salinidad del suelo puede originarse de forma natural o inducida por la actividad humana. La acumulación natural de sales (incluido NaCl , Ca^{2+} y Mg^{2+} y, a veces, SO_4^{2-} y CO_3^{2-}) en el suelo o en el agua superficial contribuye a la salinidad primaria o natural. Por otro lado, las malas prácticas agrícolas contribuyen a la salinización secundaria (Rasheed *et al.*, 2022). Un suelo salino se define generalmente como aquel en el que la conductividad eléctrica (CE) del extracto de saturación (CE_e) en la zona de la raíz supera los 4 dS m^{-1} (aproximadamente 40 mM NaCl) a 25 °C y tiene un porcentaje de sodio intercambiable (PSI) de 15 (Shrivastava *et al.*, 2015).

La salinidad acumulada en el suelo afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas a través del estrés osmótico, la citotoxicidad debido a la absorción excesiva de iones como el sodio (Na^+) y el cloruro (Cl^-) y el desequilibrio nutricional. Además, la salinidad suele ir acompañada de estrés oxidativo debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Isayenkov y Maathuis, 2019). El estrés salino afecta la absorción y el metabolismo de los principales nutrientes de las plantas, incluidos el N, Ca, K, P, y S (Jahan *et al.*, 2021).

El N es constituyente esencial en diversas moléculas y procesos metabólicos, tales como la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y muchos otros componentes celulares. Las raíces de las plantas pueden absorber formas inorgánicas de nitrógeno como NO_3^- y NH_4^+ ; además de orgánicas como

son los aminoácidos para participar en procesos metabólicos. El estrés salino afecta la absorción y asimilación de nitrógeno en las plantas (Teh *et al.*, 2016) debido a que el Cl^- compite con el NO_3^- y causa toxicidades y disparidades iónicas, que restringen los procesos de absorción, transporte y asimilación del N (Nazir *et al.*, 2023).

El S es uno de los elementos esenciales que se requiere para el adecuado crecimiento y desarrollo de las plantas, es componente de los aminoácidos proteicos como la metionina y la cisteína, el glutatión, las vitaminas (biotina y tiamina), las fitoquelatinas, la clorofila, la coenzima A y la S-adenosilmetionina. También participa en la formación de enlaces disulfuro, en la regulación de proteínas y enzimas, particularmente en el control redox. Ofrece protección contra el daño oxidativo a través del glutatión y sus derivados. Forma parte de varios metabolitos secundarios y es necesario en una gran cantidad de funciones fisiológicas, el crecimiento y el desarrollo de la planta (Narayan *et al.*, 2023). El S mejora la tolerancia al estrés abiótico debido a los compuestos como la cisteína y el glutatión los cuales ayudan significativamente en la homeostasis redox celular y, por lo tanto, aumenta la tolerancia al estrés oxidativo (Jahan *et al.*, 2021).

Para reducir los problemas causados por la salinidad, es importante conocer los niveles y mecanismos de tolerancia a la salinidad de los principales cultivos. El género *Brassica* se clasifica como moderadamente tolerante a la salinidad e incluye especies de importancia económica en todo el mundo, que en su mayoría se consumen como vegetales frescos (Pavlović *et al.*, 2019). El estrés salino causa graves pérdidas en las especies de *Brassica*, entre las que se encuentran *B. napus*, *B. rapa*, *B. oleracea* y *B. juncea*, al inducir toxicidad iónica y oxidativa (Shaha *et al.*, 2021). Al respecto, esta familia produce glucosinolatos, sintetizados como metabolitos secundarios que contienen azufre los cuales participan en la tolerancia a estreses bióticos y abióticos (Czerniawski *et al.*, 2018).

Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres dosis de sulfato en la concentración de nitrato en plantas de col (*Brassica oleracea*) cv. Royal, sometidas a tres niveles de estrés salino en la solución nutritiva.

PARTE EXPERIMENTAL

Ubicación del experimento y condiciones experimentales

La investigación se realizó en las instalaciones del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, en un invernadero de plástico con 30% de sombra y con luz difusa, tipo túnel, con ventana cenital, y estructura de malla antiáfidos en partes laterales; cuyas coordenadas geográficas son 19° 27' 42.98" N, 98° 54' 31.95" O y 2245 m de altitud.

Material vegetal

Se utilizaron plántulas de col (*Brassica oleraceae*) cv. Royal, las cuales fueron germinadas en charolas de 200 cavidades y como sustrato una mezcla de perlita y turba en una proporción 1:1 (v:v). Las plántulas desarrollaron y crecieron bajo condiciones controladas de invernadero durante 30 días, manteniendo el sustrato a capacidad de campo mediante riegos frecuentes. Al término de este periodo fueron trasplantadas y las plantas tenían una altura media de 10 cm.

Diseño de tratamientos y diseño experimental

Se estableció un experimento bifactorial (3×3) compuesto por tres niveles de SO_4^{2-} (3.5, 4.25 y 5 mM) y tres niveles de NaCl (0, 75 y 150 mM). Los tratamientos fueron suministrados en la solución universal de Steiner, misma que se modificó para establecer las tres concentraciones de SO_4^{2-} sin alterar el potencial osmótico de la solución. Por el contrario, la adición de las distintas dosis de NaCl modificó el potencial osmótico de las soluciones nutritivas. Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones y se dispusieron en un diseño experimental completamente al azar. Las unidades experimentales estuvieron compuestas por macetas de 12 L acondicionadas para sostener tres plantas cada una.

Las plantas se desarrollaron en un sistema de raíz flotante por lo que las macetas contaban con sistema de oxigenación y adaptadas a un temporizador de ocho ciclos programado cada 2 h con tiempos de oxigenación de 15 min.

Manejo del experimento

Las plantas se sometieron a 14 d de adaptación en el sistema de raíz flotante, después de ese tiempo se aplicaron los tratamientos con los cuales desarrollaron durante 40 d. El pH de la solución de las macetas se monitoreo todos los días y se ajustó a 5 usando H_2SO_4 .

Variables evaluadas

Después de 40 d de aplicados los tratamientos a las plantas y mantenidas las condiciones ambientales dentro del invernadero, las plantas se retiraron de la solución nutritiva y se procedió a separar el vástago de la raíz. Las muestras se colocaron en una estufa de aire forzado (Riossa HCF-125) a 70°C hasta peso constante, posteriormente las muestras se molieron.

La determinación de la concentración de nitrato se realizó en vástago mediante el método de Cataldo. Se tamizaron las muestras secas y molidas a través de una malla de 50 mm. Se pesaron 100 mg del material y se les agregó 10 mL de agua desionizada. Estas suspensiones se incubaron a 45°C durante 1 h. Las muestras se homogeneizaron con ayuda de un vórtex y después se centrifugaron a 5000 rpm por 15 min para posteriormente filtrarlas. Del extracto obtenido se tomaron 200 μL y se les adicionó 800 μL de ácido salicílico-ácido sulfúrico, transcurridos 20 min se adicionaron 19 mL de NaOH 2 N. Finalmente las muestras se leyeron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm (JENWAY, 6715 UV/Vis, Spectrophotometer, Multi-cell changer. UK).

Análisis de datos

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza para evaluar la significancia de los factores de estudio y de su interacción. Posteriormente, con los resultados que fueron diferentes entre tratamientos, se hicieron pruebas de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), empleando el software SAS 9.0.

RESULTADOS

En la Figura 1 se observan los efectos de la interacción de los factores de estudio (NaCl y SO_4^{2-}) en la concentración de nitrato en plantas de col.

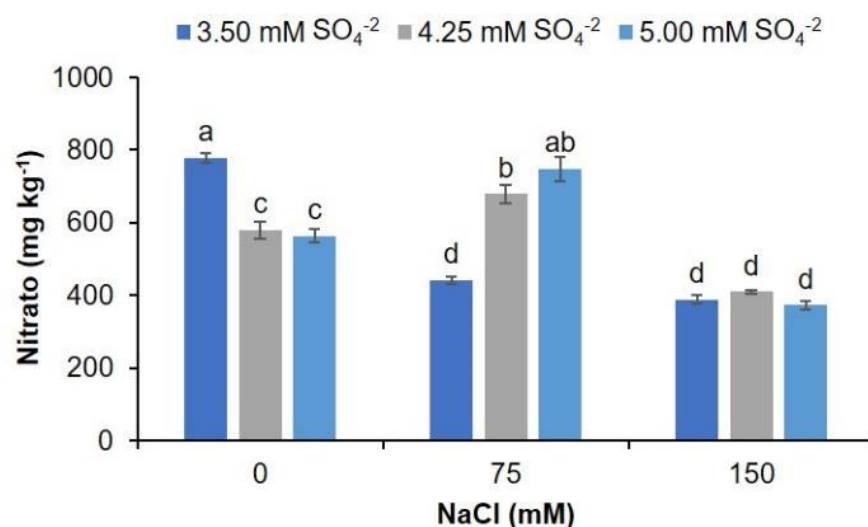


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl y SO_4^{2-} en la concentración foliar de nitrato en plantas de col. Medias $\pm$ DE con letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

En los tratamientos donde no se aplicó NaCl , el nivel 3.5 mM SO_4^{2-} aumentó la concentración de NO_3^- ; mientras que, los niveles: 4.25 y 5 mM SO_4^{2-} la disminuyeron significativamente. El nivel más

alto de salinidad (150 mM NaCl) redujo significativamente la concentración de NO_3^- en vástagos de col sin que los diferentes niveles de SO_4^{2-} tuvieran efecto. Por otra parte, en condiciones de salinidad moderada (75 mM NaCl), las concentraciones de sulfato tuvieron efectos diferenciales en la concentración de NO_3^- . El nivel 3.5 mM SO_4^{2-} disminuyó la concentración de NO_3^- ; mientras que, los niveles más altos aumentaron su concentración, siendo el nivel más alto de sulfato el que incrementó la concentración de NO_3^- , por lo que las plantas de col expuestas a concentraciones de 75 mM NaCl aumentaron la concentración de NO_3^- con niveles altos de SO_4^{2-} (5 mM SO_4^{2-}) (Figura 1).

Los resultados obtenidos bajo las condiciones experimentales de este estudio permiten demostrar que la salinidad inhibe el crecimiento y la reproducción de las plantas a través de una fase inicial de estrés osmótico seguida de toxicidad iónica debido a la acumulación de iones Na^+ y Cl^- en el citosol que, en última instancia, resulta en estrés oxidativo (Singh *et al.*, 2021) y deficiencia de nutrientes (N, Ca, K, P, Fe, Zn) (Shrivastava *et al.*, 2015). La disminución de la concentración de nitrato en esta investigación se debe principalmente a que, en condiciones salinas, una mayor absorción y acumulación de Cl^- disminuye la absorción total de nitrógeno por los brotes debido al antagonismo $\text{Cl}^-/\text{NO}_3^-$ (Balasubramaniam *et al.*, 2023). En plántulas de arroz el estrés salino restringió la absorción de NO_3^- en el tonoplasto provocando un aumento en la acumulación de NH_4^+ , alterando el metabolismo del N y en consecuencia el rendimiento (Nazir *et al.*, 2023). Por otra parte, se ha demostrado que el suministro adecuado de S mejora el contenido de glutatión y mejora las características fotosintéticas y de crecimiento en plantas con estrés salino.

CONCLUSIONES

El estrés salino disminuye la concentración de nitrato en plantas de col. En concentraciones de 75 mM NaCl las concentraciones de 5 mM SO_4^{2-} incrementan las concentraciones de nitrato mientras que bajo salinidad inducida por la dosis 150 mM NaCl, el nivel de azufre no tiene efecto significativo en esta variable.

BIBLIOGRAFÍA

1. B. Jahan, F. Rasheed, Z. Sehar, M. Fatma, N. Iqbal, A. Masood, N.A. Anjum, N. A. Khan, "Coordinated role of nitric oxide, ethylene, nitrogen, and sulfur in plant salt stress tolerance", *Stresses*, Vol. 1, 2021, pp. 181–199. <https://doi.org/10.3390/stresses1030014>
2. C. Y. Teh, N.A. Shaharuddin, C.L. Ho, M. Mahmood, "Exogenous proline significantly affects the plant growth and nitrogen assimilation enzymes activities in rice (*Oryza sativa*) under salt stress", *Acta Physiologiae Plantarum*, Vol. 38, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2163-1>
3. F. Nazir, M. Mahajan, S. Khatoon, M. Albaqami, F. Ashfaq, H. Chhillar, P. Chopra, M.I.R. Khan, "Sustaining nitrogen dynamics: A critical aspect for improving salt tolerance in plants", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 14, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1087946>
4. F. Rasheed, N.A. Anjum, A. Masood, A. Sofo, N.A. Khan, "The key roles of salicylic acid and sulfur in plant salinity stress tolerance", *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 41, 2022, 1891–1904. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10257-3>
5. I. Pavlović, S. Mlinarić, D. Tarkowska, J. Oklestkova, O. Novák, H. Lepeduš, B. V. Vujčić, B. S. Radić, M. Strnad, B. Salopek-Sondi, "Early *Brassica* crops responses to salinity stress: a comparative analysis between chinese cabbage, white cabbage, and kale", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00450>
6. M. Singh, U. Nara, A. Kumar, A. Choudhary, H. Singh, S. Thapa "Salinity tolerance mechanisms and their breeding implications", *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, Vol. 19. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00274-4>
7. O. P. Narayan, P. Kumar, B. Yadav, M. Dua, A.K. Johri, "Sulfur nutrition and its role in plant growth and development", *Plant Signaling & Behavior*, Vol. 1, 2030082, 2023
8. P. Czerniawski y P. Bednarek, "Glutathione S-Transferases in the biosynthesis of sulfur-containing secondary metabolites in Brassicaceae plants", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01639>

9. P. Shrivastava y R. Kumar, "Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation", Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 9, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
10. S. V. Isayenkov y F.J.M. Maathuis, "Plant salinity stress: many unanswered questions remain", Frontiers in Plant Science, Vol. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>
11. T. Balasubramaniam, G. Shen, N. Esmaili, H. Zhang, "Plants' response mechanisms to salinity stress" Plants, Vol. 12. <https://doi.org/10.3390/plants12122253>

IMPORTANCIA DEL PH EN SUELOS DESTINADOS A USO AGRÍCOLA

Paulina López Guerra¹, Sofía Loza Cornejo¹

Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara.

paulina.lguerra@alumnos.udg.mx

RESUMEN

La agricultura es una práctica que se lleva a cabo con la finalidad de obtener distintos cultivos y proveer alimentos para el ser humano o forraje para animales; sin embargo, existen variables que pueden afectar tanto la calidad de éste como las cosechas que se obtienen. Entre estas variables se encuentra el pH del suelo, ya que de su valor dependerá en gran medida la calidad de las cosechas y cualquier variación influirá de manera positiva o negativa, representando de este modo, ganancias o pérdidas para el agricultor. Además del pH existen otras variables que afectan la calidad del suelo. El presente trabajo de investigación se enfocó en el análisis del pH de una parcela dedicada al cultivo de maíz y avena con la finalidad de conocer la existencia de variación y establecer sus posibles efectos en la calidad de dicho suelo. Mediante la realización de pruebas *In situ* y en laboratorio se determinó que de forma general en muestras compuestas de suelo de 9 sitios de una parcela de cultivo de maíz (*Zea mays L.*) y avena (*Avena sativa L.*), los valores de pH obtenidos oscilaron de 5.04 a 7.61, con una media de 6.32, indicando que el suelo es óptimo para el crecimiento de los cultivos. Solamente en uno de los sitios de muestreo se encontraron valores de pH ácido, lo cual podría tener consecuencias en la fertilidad y mineralización de la materia orgánica. Se concluye que existen variaciones de pH en la parcela analizada las cuales pudieran afectar los cultivos en un futuro; por ello, se recomienda utilizar alternativas que permitan nivelar dichos valores y con ello, obtener mayor rendimiento en las cosechas de ambas especies vegetales.

INTRODUCCIÓN

La agricultura es una práctica de gran importancia para la producción de alimentos destinados para consumo humano y animal. Sin embargo, se deben tomar en cuenta variables que pueden influir en el desarrollo de los cultivos establecidos en dichos suelos. Una de estas variables es el pH, cuyo valor permite conocer si hay nutrientes disponibles para la especie cultivada (Vargas *et al.*, 2022). Por lo anterior, el objetivo principal de la presente investigación fue analizar la influencia que tiene el pH en la calidad del suelo utilizado para fines agrícolas.

TEORÍA

pH

El pH o potencial de hidrógeno es una medida utilizada para establecer el nivel de acidez o alcalinidad de una disolución. La escala de pH tiene valores que oscilan entre 0 y 14 y permite determinar la concentración de iones hidrógeno en una sustancia. De acuerdo con Rivera *et al.* (2018), la variable pH es de gran importancia porque expresa el grado de acidez presente en una sustancia o dilución.

El pH que presenta cada suelo permite su clasificación en tres tipos:

Suelos ácidos: los valores registrados oscilan por debajo de 7 y se caracterizan por mostrar dificultad para el desarrollo de cultivos (Soriano, 2018).

Suelos neutros: registran valores iguales a 7, aunque también se toman en cuenta rangos por debajo o por encima; sin embargo, deben ser cercanos al pH 7, para así garantizar un desarrollo óptimo de los cultivos establecidos y con ello garantizar la adquisición de nutrientes por parte de la planta (Soriano, 2018).

Suelos alcalinos: presentan valores por encima de 7, se caracterizan por ser suelos con dificultades para desarrollar ciertos cultivos y fomentan una posible aparición de clorosis férrica en las plantas (Soriano, 2018).

PARTE EXPERIMENTAL

El sitio de estudio fue una parcela de cultivo de maíz y avena en el Ejido La Laguna, municipio de Lagos de Moreno, Jalisco, México (21°23'41.8"N 101°56'31.8"W). Se utilizó la técnica de muestreo diagonal para la toma de lectura de valores de pH en 9 sitios de la parcela (Figura 1).



Figura 1. Área de estudio, Ejido La Laguna. Fuente: Autoría propia.

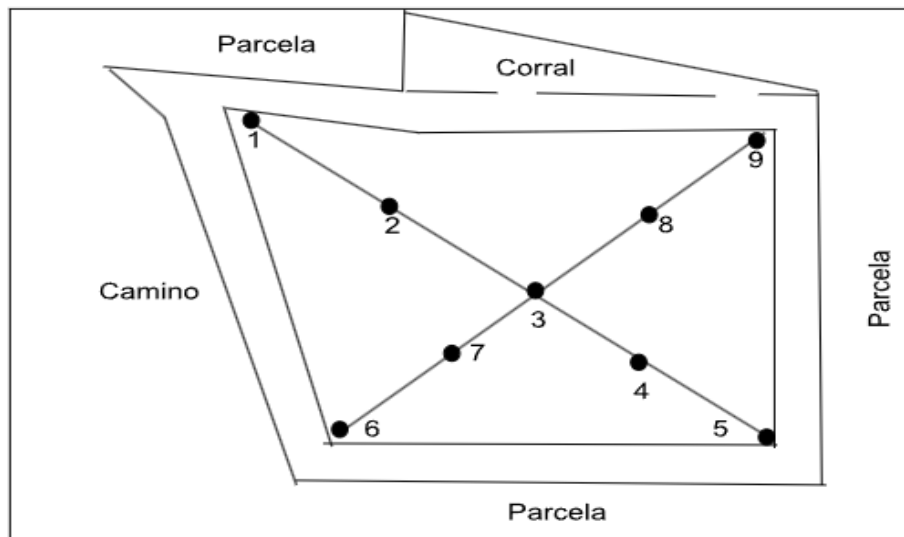


Figura 2. Croquis de la parcela analizada y localización de puntos para extracción de muestras. Fuente: Autoría propia.

Después de determinar los puntos para la extracción de muestras, se llevó a cabo la toma de valores de pH en cada uno de ellos mediante el uso del equipo portátil HI 99121 (*HANNA Instruments, s.f.*) (Figura 3). El procedimiento de lectura de pH consistió en los siguientes pasos:

- Perforar el suelo hasta aproximadamente 20 cm de profundidad.
- En caso de que el suelo estuviera seco se adiciona una pequeña cantidad de agua destilada para facilitar la medición.
- Posterior a la medición se lavó el electrodo con agua simple.

- d) Se introdujo el electrodo ligeramente en la perforación realizada previamente.
- e) Registro de los valores registrados en el sitio donde se realizó la lectura de pH.
- f) Lavado del electrodo con agua simple eliminando con cuidado cualquier resto de suelo.
- g) Repetir el procedimiento para cada lectura.

Es importante mencionar que el equipo portátil de medición además de registrar los valores de pH también mide otros parámetros, como temperatura del suelo; sin embargo, para la realización de este trabajo únicamente se consideraron los valores de pH registrados *In situ*.

Por otro lado, después de llevar a cabo las lecturas *In situ*, también se procedió a recolectar una muestra compuesta a una profundidad de 20 cm a partir de los 9 sitios analizados anteriormente. Dicha muestra se recolectó y etiquetó para ser trasladada hasta el laboratorio, donde se realizaron pruebas de pH con tiras reactivas; para ello se utilizó el siguiente método:

- a) Pesar 10 g de muestra de suelo para 3 repeticiones.
- b) Preparar tres diluciones: 1:1, 1:2 y 1:5 (suelo-agua).
- c) Agitar las diluciones por 15 minutos y dejar reposar por 30 minutos.
- d) Tomar lectura de pH con tiras reactivas.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de medición de pH *In situ* se muestran en la Tabla 1 y Figura 4.



Figura 3. Lectura de pH *In situ*. Fuente: Autoría propia.

Tabla 1. Valores de pH obtenidos en los sitios de análisis.

Sitio	pH
1	5.04
2	6.27
3	6.56
4	7.61
5	7.04
6	6.46
7	6.44
8	6.13
9	6.31
Promedio	6.43

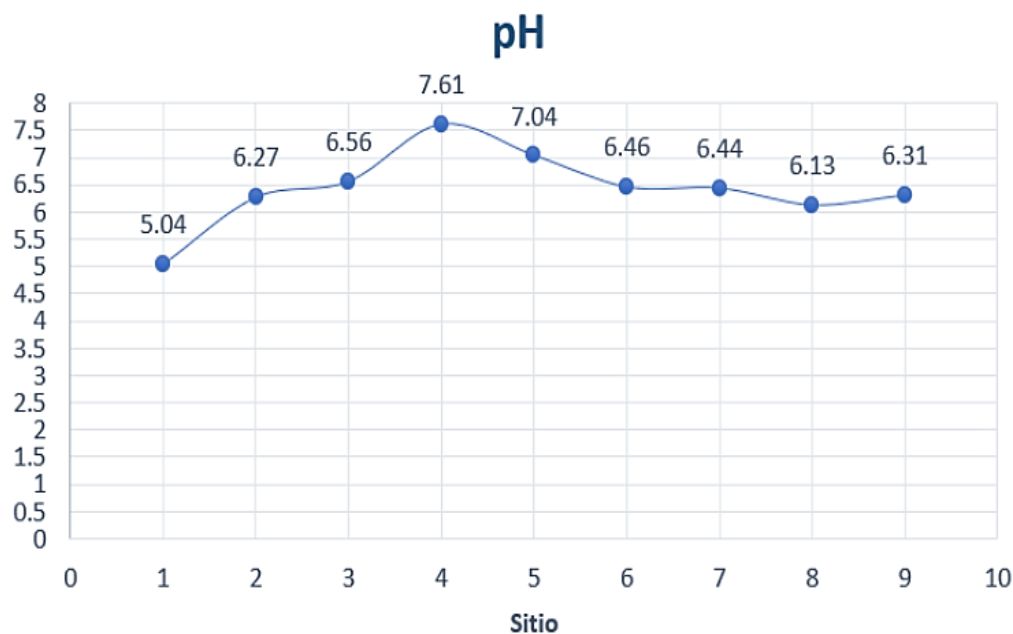


Figura 4. Valores de pH obtenidos en el sitio analizado.

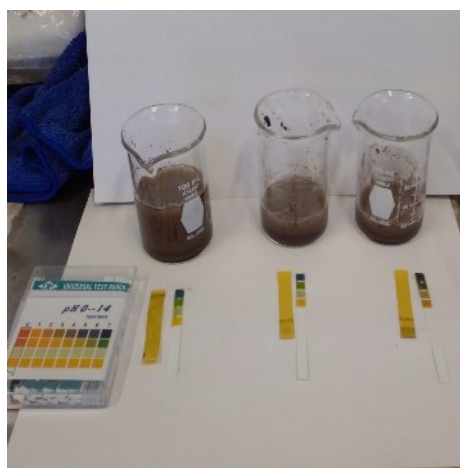


Figura 5. Lectura de pH en laboratorio con tiras reactivas de pH.

Fuente: Autoría propia.

Los valores de pH oscilaron de 5.04 a 7.61 con un promedio de 6.32 entre ambos valores y 6.43 general en los 9 sitios analizados, esto de forma *In situ*, y con un viraje cercano al neutro en los resultados generados por las pruebas en laboratorio con tiras reactivas de pH (Figura 5); esto es un indicativo de que el suelo es óptimo para siembra y desarrollo de cultivos, ya que está próximo a valores neutros. Sin embargo, se debe tener especial cuidado en que dichos valores no disminuyan ya que un suelo ácido no permitirá un buen desarrollo de la siembra, como lo establece Soriano (2018). En este caso, es importante destacar que aunque de forma general el suelo tiene valores idóneos de pH, en algunos sitios, de acuerdo con los datos obtenidos, el pH registrado es ácido, tal es el caso del sitio 1 registrado en la Figura 4, donde se tiene un valor de pH de 5.04, este hecho podría influir en que los cultivos establecidos en dicha parcela presenten condiciones no óptimas para su desarrollo, ya que al ser un sitio ácido indicaría probablemente la presencia de aluminio (Al). De acuerdo con algunos autores lo anterior provocaría que los cultivos no logren alcanzar la altura adecuada y que su rendimiento esperado al momento de cosechar no sea el óptimo esperado (Zárate

et al., 2024). Para ello se deben buscar alternativas que permitan regular o, dicho de otra manera, mejorar los valores de pH, acercándolos lo más posible a la neutralidad. Se sugiere que en los casos en que se presenten valores de pH ácidos, aplicar compuestos químicos que permitan elevar la concentración de iones H^+ , por ejemplo, comúnmente se hace uso de óxido de calcio (principalmente por su rapidez de reacción), lo cual es relativamente eficaz en caso de requerir resultados a la brevedad. No obstante, es necesario mencionar que este compuesto no es el único que se puede aplicar, ya que otra sustancia denominada cal agrícola, compuesta principalmente de carbonato de calcio ($CaCO_3$) es también utilizada como alternativa para remediar suelos ácidos (*Espinosa & Molina, 1999*).

CONCLUSIONES

Los valores de pH en suelos destinados a la agricultura tienen una gran influencia sobre los cultivos ya que pueden causar que no se adquieran los nutrientes necesarios y, por ende, tampoco logren desarrollarse de forma óptima los cultivos, ocasionando de este modo, posibles pérdidas monetarias. Se encontraron variaciones significativas en los valores de pH de la parcela analizada, lo anterior permite explicar la razón por la cual hay sitios donde no se desarrolla de forma adecuada el cultivo, para ello se propone buscar alternativas que permitan remediar la calidad del suelo analizado, con la finalidad de que los valores de pH se aproximen a la neutralidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. F. Vargas, I. M. Ramírez y A. F. Arroyave, “Relación entre el PH y las mediciones de conductividad eléctrica en un suelo cultivable ubicado en Medellín, Colombia”, *Ingenierías USBMed.*, Vol. 13, 2, 2022, pp. 56-62.
2. E. Rivera, M. Sánchez y H. Domínguez, “pH como factor de crecimiento en plantas”, *Revista de Iniciación Científica.*, Vol. 4, 2018, pp. 101-105.
3. HANNA Instruments, “HI 99121 Test Kit pH del suelo. Manual de Instrucciones”.
4. J. Espinosa & E. Molina, “Acidez y encalado de los suelos”, en *International Plant Nutrition Institute* (1999), pp. 1-42.
5. M. Soriano, “pH del suelo”, *Universitat Politècnica de València*. pp. 2-10.
6. W. Zárate, M. Felipe, F. E. Martínez, K. Móreno, J. L. Arispe y J. F. Díaz, “Propiedades químicas del suelo y calidad del agua en Miahuatlán de Porfirio Díaz y Ejutla de Crespo, Oaxaca, México”, *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, Vol. 11, 1, 2024, pp. 1-14.

CARACTERIZACIÓN ZONAL DE LA PIEL DE HÁMSTER ADULTO MACHO Y HEMBRA CON FINES DE DERIVA CELULAR

América Michelle García Rosales¹, Alfredo Trejo Córdova², José Roberto Vázquez Avendaño²,
María del Carmen Navarro Maldonado², Demetrio Alonso Ambriz García²

¹Licenciatura en Biología Experimental. ²Departamento de Biología de la Reproducción,
División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa, CDMX.
deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

La piel es el órgano más extenso del cuerpo, cumpliendo numerosas funciones vitales y poniendo en íntima relación el medio interno con el externo. Su composición, estructura y función es variada dependiendo del área específica del cuerpo. Los animales de bioterio tienden a acumular tejido adiposo subcutáneo debido al ambiente monótono y a la riqueza nutrimental de su dieta, por lo que para la deriva de células epiteliales en cultivos primarios con fines de clonación de embriones, el área específica de la biopsia de piel es de gran relevancia, utilizándose generalmente la piel de oreja. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar áreas de la piel de hámster macho y hembra con fines de deriva celular. Se utilizaron 6 machos (peso promedio de 157g) y 6 hembras (peso promedio de 165g) hámster Sirio dorado adultos, mantenidos en condiciones de bioterio consumiendo nutricubos Lab-Diet® y agua *Ad libitum*. Fueron pesados y sacrificados. Se disecó la piel identificando y caracterizando por el anverso las áreas anatómicas que después fueron seccionadas y pesadas. Se caracterizaron 8 áreas (cabeza, abazones, flancos, dorso, grupa y extremidades). La caracterización de la piel fue similar entre machos y hembras. Las áreas de mayor peso fueron los abazones (por su extensión y cantidad de tejido adiposo), el dorso (por su extensión) y la cabeza (área muy muscular). Con respecto al peso corporal, el porcentaje de piel en hembras fue de 22.5% y en machos de 22.9% sin diferencias significativas ($p>0.05$). Se efectuaron ensayos de deriva de células de piel de las zonas de menor grasa (oreja y dorso) y se determinó el área dorsal como la más apropiada (por no contener cartílago y tener menor cantidad de tejido adiposo).

INTRODUCCIÓN

De los órganos que conforman al cuerpo, la piel es el más extenso y desempeña un papel crucial para la termorregulación que es la capacidad para mantener la temperatura interna constante a través de dos procesos principales: la sudoración y la vasoconstricción/vasodilatación. Cuando la temperatura corporal aumenta, los vasos sanguíneos en la piel se dilatan (vasodilatación), permitiendo que una mayor cantidad de sangre fluya hacia la superficie, esto facilita la pérdida de calor a través de la radiación y la conducción. Además, las glándulas sudoríparas se activan, liberando sudor en la superficie de la piel. A medida éste se evapora, absorbe calor del cuerpo, contribuyendo a refrescarla (Gravit, 2018).

Por otro lado, en situaciones de frío, los vasos sanguíneos cutáneos se contraen (vasoconstricción), reduciendo el flujo sanguíneo hacia la piel para conservar el calor. Además, los músculos piloerectores se contraen, erizando los pelos corporales y creando una capa de aire aislante que ayuda a retener el calor (Richard, 2015).

En conjunto, esos mecanismos permiten que la piel contribuya de manera significativa a la homeostasis térmica del cuerpo, asegurando que la temperatura interna se mantenga en un rango óptimo para el funcionamiento celular y metabólico requerido.

Sin embargo, cabe mencionar que, la piel es un complejo órgano multifuncional, no solo termorregulador, que cumple una variedad de roles esenciales, y uno de los más destacados es su función de protección. Esta barrera física y biológica resguarda al cuerpo de diversas amenazas externas, desempeñando un papel crucial en la defensa contra infecciones, daños mecánicos, radiación ultravioleta y pérdida excesiva de agua. A continuación, se detallan algunas de las principales funciones de este gran órgano, descritas por Rinnerthaler *et al.* (2015).

1. Barrera física: La capa externa de la piel, la epidermis, está formada por células queratinizadas que actúan como una barrera física contra microorganismos patógenos, sustancias químicas y agentes irritantes. Esta capa previene la entrada directa de gérmenes al cuerpo, reduciendo significativamente el riesgo de infecciones.

2. Producción de sebo: Las glándulas sebáceas presentes en la dermis producen sebo, una sustancia grasa que se distribuye por la superficie de la piel. El sebo ayuda a mantener la piel flexible, evita que se reseque y forma una película hidrofóbica que dificulta la proliferación de ciertos microorganismos que podrían ser dañinos.

3. Defensa inmunológica: La piel, en su parte interna, contiene células del sistema inmunológico, como los macrófagos de Langerhans, que están preparados para detectar y eliminar patógenos. Estas células juegan un papel crucial en la respuesta inmunitaria cutánea, protegiendo contra invasiones bacterianas, virales y fúngicas.

4. Protección contra la radiación ultravioleta: La melanina, un pigmento producido por células llamadas melanocitos en la epidermis, absorbe y dispersa la radiación ultravioleta (UV) del sol. Esto ayuda a prevenir daños en el ADN celular y reduce el riesgo de cáncer de piel y envejecimiento prematuro.

5. Sensación de dolor: Los receptores del dolor presentes en la piel actúan como un mecanismo de protección al alertar al cuerpo sobre posibles lesiones o daños. Esto permite una respuesta rápida para evitar situaciones que podrían causar más daño.

6. Regulación de la pérdida de agua: La capa córnea de la epidermis, compuesta por células muertas y queratinizadas, forma una barrera impermeable que ayuda a prevenir la pérdida excesiva de agua desde el cuerpo hacia el entorno.

Adicional a ello, la piel consta de 3 capas: epidermis, dermis e hipodermis, las cuales están constituidas de diferentes formas y células. La piel no es uniforme en todo el cuerpo, ya que cada área está en mayor o menor contacto con el exterior, así, por ejemplo, las palmas de las manos y las plantas de los pies, tienen una función de protección mayor por lo cual tienen una epidermis muy gruesa, en contraste, los párpados tienen una epidermis muy delgada (Wong *et al.*, 2016).

La epidermis es la capa más externa y actúa como una barrera protectora contra microorganismos, sustancias químicas y radiación ultravioleta. Contiene células queratinizadas como los queratinocitos, que proporcionan resistencia y elasticidad. Justo debajo de ella se encuentra la dermis que contiene fibras de colágeno y elastina, responsables de la firmeza y flexibilidad de la piel. También alberga vasos sanguíneos, folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas. Se encuentran además presentes células epiteliales basales, así como fibroblastos, los cuales actúan como células madre, para que ante una situación requerida, procedan a su rápida diferenciación y formación diferencial de células necesarias, tales como células epiteliales, vasos sanguíneos, células nerviosas o las que sean requeridas para reconstitución de los tejidos. Es en ese tipo celular en particular, del que existe el interés por derivarlas y cultivarlas *in vitro* para, a partir de ellas obtener el genoma del organismo. Por otro lado, la hipodermis es la capa más profunda y está compuesta principalmente por tejido adiposo que actúa como un importante aislante térmico y reserva de energía. Además, conecta la piel con los tejidos subyacentes (Wong *et al.*, 2016).

La vascularización de la dermis, como ya se ha explicado, contribuye a la regulación térmica del cuerpo al controlar la pérdida o retención de calor.

Es muy importante señalar que el proceso de renovación celular constante en la epidermis es fundamental para mantener la integridad de la piel. Factores como la exposición solar, la edad y la genética, pueden afectar la salud cutánea, dando lugar a condiciones como arrugas, manchas y enfermedades dermatológicas (Khavkin y Ellis, 2011; Rinnerthaler *et al.*, 2015).

Recientemente la piel es el órgano de elección para investigaciones de deriva celular en el establecimiento de cultivos primarios, en condiciones *in vitro*, tanto para el estudio de la histología o fisiología celular, como para la obtención de células madre en la terapia celular y para la obtención

de carioplastos para la transferencia nuclear de células somáticas en el proceso de la clonación de organismos (Navarro-Maldonado *et al.*, 2015).

Por otro lado, el hámster Sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) ha sido un organismo considerado como modelo de estudio, muy utilizado en diversas metodologías de investigación, sin que exista al momento información relacionada con la caracterización zonal de su piel, para la optimización de ella en derivas celulares y su posterior uso biotecnológico. El tipo celular que interesa particularmente aislar y cultivar de las biopsias de piel es el fibroblasto, el cual actúa como célula madre, logrando procesos de diferenciación celular para proveer del tipo de célula necesaria según el tipo requerido ante una emergencia de reparación de tejidos. Los fibroblastos además pueden ser cultivados y utilizados en procesos de biotecnologías de la reproducción, tal como la clonación de embriones, al servir como carioplastos o donadores de núcleo en la transferencia a ovocitos enucleados (citoplastos) (Vazquez *et al.*, 2017).

Es importante mencionar que, dado el ambiente monótono al cual son sometidos para su crianza los animales de bioterio, satisfaciendo sus necesidades básicas como un alimento debidamente balanceado en nutrientes, así como agua fresca, en un espacio mínimo necesario, hace que esta vida sedentaria provoque acumulación de grasa en la hipodermis, lo cual complica la deriva celular en cultivos primarios. Además, debido a la constitución de la oreja del hámster adulto con abundante tejido conjuntivo, hace complejo el establecimiento de derivas celulares en cultivos primarios de fibroblastos, no así en neonatos.

En trabajos previos, no fue posible derivar células a partir de biopsias de oreja en hámster adulto, por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo hacer una caracterización macroscópica zonal de la piel del hámster en individuos hembra y machos con fines de deriva celular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Condiciones de bioterio.

Los hámsteres permanecieron en el bioterio de UAMI, en un cuarto con fotoperiodo de 14 horas luz (4am a 6pm), por 10 horas de obscuridad, a temperatura de 23°C y humedad del 60%. Alojados en grupos de 6 individuos dentro de cajas de acrílico de 50 x 34 x 20cm, con cama sanitaria de 2.5 cm de espesor que fue cambiada dos veces por semana. Recibieron agua y alimento (Lab Diet® al 23% de Proteína) *Ad libitum*.

Animales.

Para la sectorización de la piel se utilizaron 6 hembras y 6 machos adultos de condición saludable, de 6 meses de edad y pesos promedio de 160g y 140g, respectivamente. En buena condición de salud. Las hembras fueron de ciclos estrales regulares (estro cada 4 días) verificadas por la presencia de la Secreción Vaginal Postovulatoria. Para las derivas celulares se usaron dos hembras adultas adietadas y un neonato (1 días de edad).

Obtención de la piel.

Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Las hembras en cualquier momento de su ciclo estral. Posteriormente cada organismo se colocó en decúbito dorsal sobre una charola de disección. Se incidió en línea media con tijeras para abrir de 3 a 5 cm. Manualmente se separó la piel del tejido muscular, desde la zona ventral hacia los flancos y muslos, ayudando con aserrín para evitar el deslizamiento de los tejidos. Se hizo un corte con las tijeras en el hueso de la tibia para disecar las patas y que permanecieran unidas a la piel. De un tirón se desprendió la piel de la cola. Posteriormente, se continuó desprendiendo la piel hacia la zona dorsal y de manera ascendente hasta los hombros, se separó de los brazos y se hizo un corte en el húmero para disecar las manos y que permanecieran unidas a la piel. Finalmente se procedió a desprender la zona de los abazones. Para desprender la piel de la zona de la cabeza fue necesario hacerlo con un bisturí para cortar la unión con los músculos, orejas y nariz. La utilización del aserrín permitió ir afianzando la piel en la tracción manual y evitar que se resbalara por la abundante presencia de grasa (Figura 1).



Fig 1. Piel (lado derecho) separada del cuerpo (lado izquierdo).

Sectorización de la piel.

Se hizo un corte por la línea media desde la región caudal hasta la craneal, para poder extender la piel. Se colocó en decúbito dorsal y se seccionaron las zonas siguiendo un patrón de distribución de grasa y músculo, con lo que se obtuvieron reiteradamente 6 regiones: caudal, flancos, abazones, craneal, dorso-ventral y patas-manos. Todas las regiones fueron seccionadas. Y de este análisis se determinó la zona más conveniente para hacer las derivas celulares.

Hembras adietadas.

Tres hembras adultas mantenidas a las mismas condiciones descritas, fueron llevadas a condiciones fuera del bioterio con fotoperiodo y temperatura natural. La dieta se varió con la inclusión de frutas y verduras y reducción de nutricubos. Permanecieron en esta condición durante tres semanas. Posteriormente se procedió a recuperar la piel y sectorizarla como ya se describió y de estas hembras se obtuvieron las biopsias para hacer la deriva celular.

Cultivos celulares.

De cada hembra adietada se tomó una biopsia de piel (10mm²) de la región elegida y como control de deriva celular se utilizó una biopsia de oreja de hámster neonato (1 día de edad). Las biopsias se colocaron en tubos Ependorf conteniendo 1ml de agua con jabón y se lavaron por 3 minutos, posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en 1 ml de cloro al 1%, se enjuagaron de nuevo y finalmente, en alcohol al 70% por 1 minuto. Posteriormente se siguió el protocolo de disgregación mecánica, el cual consiste en que la biopsia desinfectada se cortó finamente utilizando un bisturí, para obtener fragmentos de menos de 1 mm² de diámetro, los cuales fueron sembrados de manera independiente para su adherencia en el fondo de una caja de Petri de 3.5 cm de diámetro, a la que se le agregaron 3 mL de medio de cultivo DMEM adicionado con 1ng/mL de EGF (Epidermal Growth Factor, por sus siglas en inglés) e incubando a 38.5°C, 5% de CO₂ y humedad a saturación (Navarro-Maldonado *et al.*, 2015).

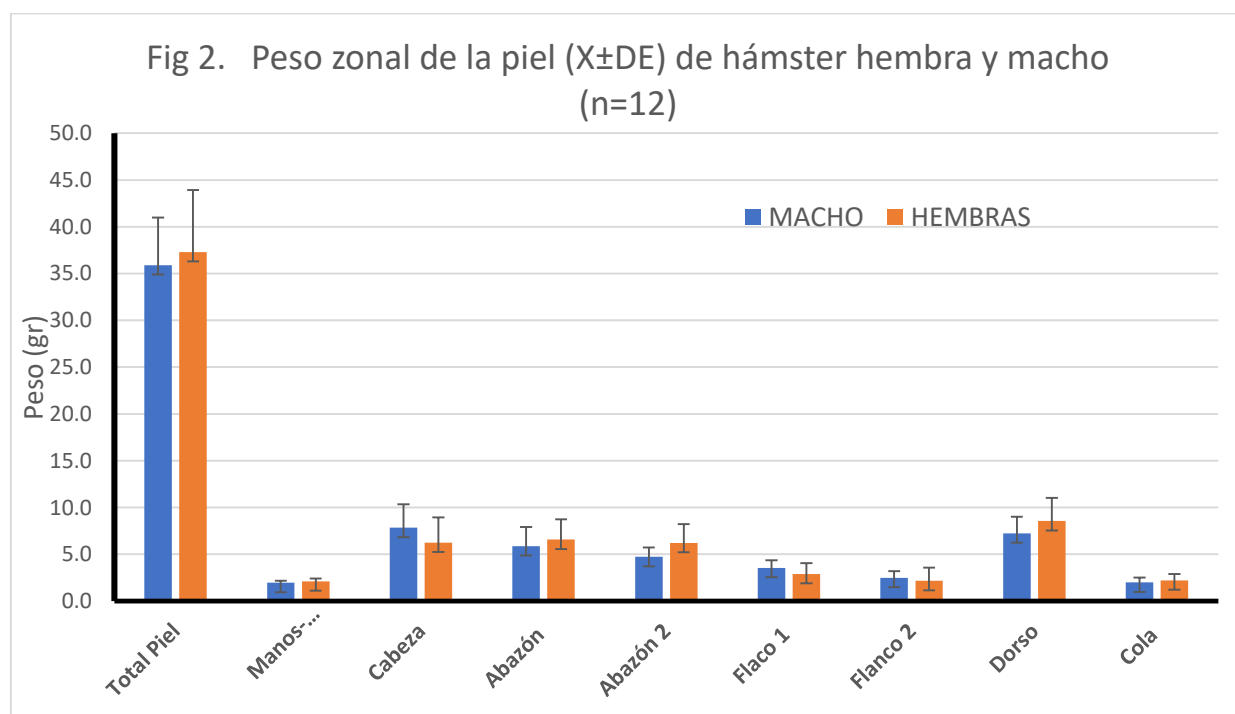
Las muestras fueron evaluadas a las 24 y 48 h después de su siembra, posteriormente cada 72 h para verificar que no hubiera contaminación bacteriana o fúngica y determinar el estado de adherencia y crecimiento de las colonias celulares, además de la reposición o cambio de medio de cultivo por agotamiento de nutrientes. El resto de los tejidos fueron eliminados del cultivo. Las muestras se mantuvieron en las condiciones señaladas hasta alcanzar la confluencia (población con más del 90% de células adheridas a la base de la caja de cultivo). Una vez confluentes, las células fueron despegadas de su matriz extracelular en la base de la caja de Petri con 1mL de Tripsina-Verseno (0.05%/0.05%) durante 8 minutos, bajo condiciones de incubación. Finalmente se detuvo la acción enzimática adicionando 1mL de DPBS con 10% de SFB. Una muestra de células de cada caja fue contada utilizando la cámara Neubauer (Vazquez *et al.*, 2017).

Variables de medición.

Se obtuvo el peso de la piel en su conjunto, así como cada una de sus secciones. Con estos datos y con el peso corporal se hicieron comparaciones y posteriormente análisis estadísticos (t-Student y Chi cuadrada, $p < 0.05$) para establecer la caracterización macroscópica zonal en machos y hembras. Para la deriva celular de fibroblastos se hicieron conteos y análisis estadísticos (t-Student pareada, con significancia a $p < 0.05$).

RESULTADOS

La técnica de separación de la piel, es la que se usa comúnmente en el procedimiento de taxidermia, lo que permite separar la piel de cada individuo en aproximadamente dos minutos. La sectorización a través de la visualización de la hipodermis fue bastante accesible, por la extensión de cada sección, así como por la cantidad de grasa y/o tejido muscular adyacente. Así se lograron reconocer 8 secciones que fueron: cabeza, abazones (dos), flancos (dos), dorso, grupa o cola y extremidades (manos y patas). La caracterización zonal de la piel fue similar entre machos y hembras. Las áreas de mayor peso en ambos géneros fueron los abazones, considerando su extensión y cantidad de tejido adiposo, así como el dorso, por su extensión y finalmente, la cabeza, por la gran cantidad de músculo (Figura 2).



Se encontró que la cantidad de cada sector de la piel fue similar entre géneros, e incluso el peso total de la piel, en relación con el peso corporal que llegó a ser semejante entre géneros sin diferencias estadísticamente significativas (hembras 22.5% y machos 22.9%, $p > 0.05$).

Las hembras adietadas durante tres semanas que consumieron preferentemente verduras y fruta, y mantenidas en condiciones de fotoperiodo y temperatura natural, disminuyeron un 20% su peso corporal, lo que mejoró la eficiencia en la realización de las derivas celulares.

Con respecto a la deriva celular, el grupo control correspondiente a la biopsia de oreja de neonato, logró la deriva de fibroblastos que alcanzaron la confluencia a los 21 días de cultivo. Al conteo celular, la población celular fue significativamente superior en neonato vs. hembra adulta adietada, de la que se derivaron células a partir de una biopsia de piel de la zona dorsal (200,000 vs. 90,000 fibroblastos, respectivamente a $p < 0.05$). Cabe destacar que la deriva celular fue posible al mantener a las hembras adultas adietadas, en condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura, durante 3 semanas (Figuras 3 y 4).

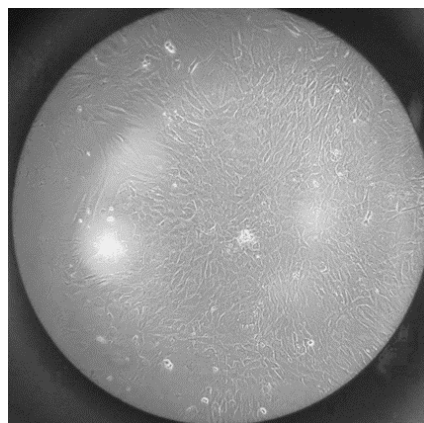
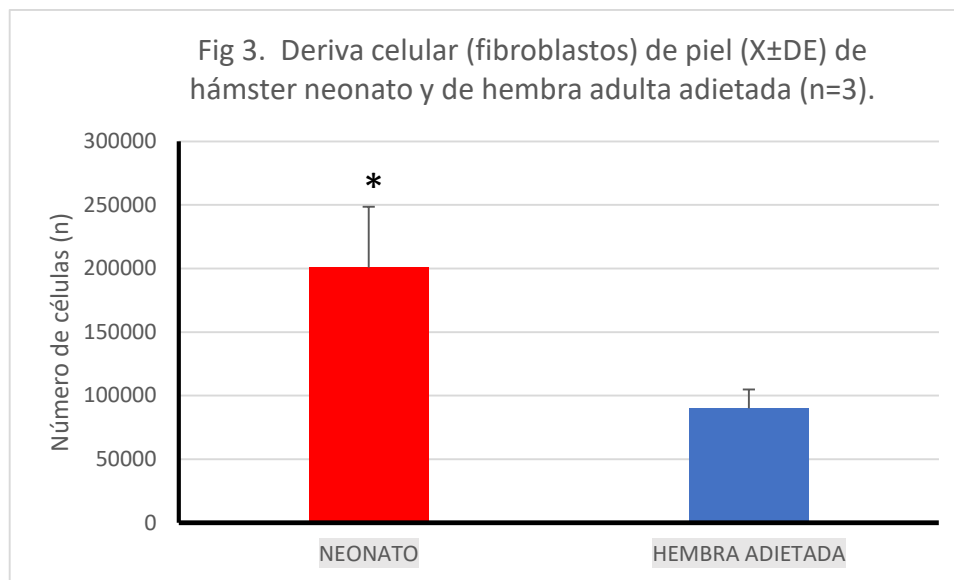


Fig 4. Fibroblastos de piel de hámster adulta derivados en cultivo primario.

DISCUSIÓN

Dado que las hembras de mamíferos requieren mayor proporción de grasa corporal que los machos, para cumplir con sus funciones fisiológicas, entre ellas, las reproductivas, se pensó que la cantidad de grasa en el tejido hipodérmico de la hámster sería considerablemente mayor que en los machos y, con ello, el peso sectorizado de la piel sería considerablemente superior en las hembras. Sin embargo, en el presente trabajo, a las condiciones de mantenimiento de los animales dentro del bioterio, los resultados en el peso total y zonal de la piel fueron similares. En algunas especies de mamíferos, los depósitos grasos en la hipodermis moldean algunas regiones corporales de las hembras, de tal manera que, además de abastecerla para sus requerimientos fisiológicos, sirven de

indicador o atrayente entre géneros para fines reproductivos. Esto es la relación del tamaño de algunas estructuras anatómicas, como las caderas o grupa con la cintura pélvica, que proveen un indicador de una posible mayor capacidad fértil, donde el acúmulo de grasa tiene una función primordial (Corazón *et al.*, 2016).

Con respecto a los valores zonales de la piel obtenidos, se observó que las zonas con mayor peso fueron los abazones con 6.25 y 5.45 gramos y el dorso con 7.9 gramos. Los abazones contenían una gran cantidad de grasa en la hipodermis, además de que eran mas grandes que los flancos. Esto es porque los abazones están cercanos a la boca del hámster, y les sirven para almacenar y transportar alimentos y materiales diversos, e incluso, crías, llegándose a confundir fácilmente la conducta de canibalismo, con la de defensa del crío, cuando preferentemente las madres los introducen a los abazones para transportarlos a una zona de mayor seguridad. Así mismo, se observó mayor peso zonal de la piel en el dorso, aunque esta zona contiene poca grasa, por lo que su mayor peso obedece a que es una zona con mayor área que otras, además de mayor grosor y resistencia (Vargas *et al.*, 2018).

El adietar a las hembras para obtener las biopsias fue determinante, dado que, en el bioterio, la abundante dieta, aunado a la restringida actividad, provoca acúmulo de grasa importante que dificulta la deriva celular por medio del método mecánico en este modelo roedor (Khavkin y Ellis, 2011). Y a pesar de algunos estudios sobre la obtención de células madre o troncales a partir de tejido adiposo, los estudios muestran la complejidad de la deriva y de la necesidad de protocolos diferentes a los aquí mencionados (Meruane y Rojas, 2010).

Es importante mencionar que otro método para la deriva celular es el enzimático, el cual requiere de más insumos, como son las enzimas colagenasas I y II, así como de más tiempo. Por ello se ha optado por la deriva mecánica por explantes. Además, debe considerarse la cantidad de grasa que contengan los tejidos, puesto que la presencia de grasa hace ineficiente la deriva celular (Vazquez *et al.*, 2017).

Finalmente, el crecimiento de celular posterior a la deriva de fibroblastos de piel, fue adecuado en las hembras adultas adietadas y, como era lo esperado, fue inferior al del grupo control del neonato de 1 día de edad, que permitió la deriva celular de una biopsia de oreja, algo que no es posible lograr a edades adultas en esta especie. La biopsia de piel de la hembra adulta adietada, obtenida del dorso, permitió la deriva celular por el método mecánico.

Aguilar (2023) realizó biopsias de oreja de bovinos de razas y edades diversas, derivando células de piel por metodologías diversas, entre las que destaca el método mecánico, con el que obtuvo poblaciones de 400,000 a 3,000,000 fibroblastos, superior a lo obtenido en este estudio en hámster, con apenas 200,000 células. Aunque el tiempo requerido para alcanzar la confluencia fue similar (21 días en promedio).

CONCLUSIÓN

Se concluye que en este estudio fue posible caracterizar 8 zonas de la piel del hámster (cabeza, abazones, flancos, dorso, grupa y extremidades), siendo similares en peso entre machos y hembras. En relación con la piel, el peso corporal fue similar entre machos y hembras. Las zonas de piel con mayor peso fueron los abazones (por la cantidad de tejido adiposo), el dorso (por su extensión) y la cabeza (muy muscular). La deriva de células de piel (fibroblastos) a partir de biopsia de piel de dorso en hembras hámster adultas adietadas, fue adecuada.

REFERENCIAS

- 1.- I. Aguilar. Generación de embriones interespecie clonados a partir de fibroblastos de piel de bovino. 2023. Tesis de Maestría. UAM Iztapalapa. 84pp
- 2.- B. Buffoli, F. Rinaldi, M. Labanca, E. Sorbellini, A. Trink, E. Guanzioli, R. Rezzani, LF. Rodella. "The human hair: from anatomy to physiology". *Int J Dermatol.* 2014 Mar;53(3):331-41. doi: 10.1111/ijd.12362.

- 3.- CS: Corazón, E. Cano, A. Ganem, C. Ledesma, I. León, (2016). Factores que influyen en la atracción interpersonal. La atracción interpersonal, ¿cuestión multifactorial?. UNAM Ciencias de la SaLud. Docuemntal 19pp.
- 4.- L. Gravit. "Skin". Nature. 2018 Nov; 563(7732):S83. doi: 10.1038/d41586-018-07428-4. PMID: 30464282EA.
- 5.- Grice, JA. Segre. "The skin microbiome". Nat Rev Microbiol. 2011 Apr;9(4):244-53. doi: 10.1038/nrmicro2537.
- 6.- C. Julio, R. César, A. Cristhian, D. Diana, Q. Andrés, Q. Juan. "El adipocito en el laboratorio: historia, perspectivas y relato de experiencia". 2015 julio/dic. CES Med. vol.29 no.2 Medellín
- 7.-J. Khavkin, DA. Ellis. "Aging skin: histology, physiology, and pathology". Facial Plast Surg Clin North Am. 2011 May;19(2):229-34.
- 8.- M. Meruane, M. Rojas. "Células Troncales Derivadas del Tejido Adiposo". Int J Morphol. 2010;28(3):879-889.
- 9.- MC. Navarro-Maldonado, S. Hernández, JR. Vazquez, JL. Martínez, NL. Zavala, B. Vargas, JA. Rivera-Rebolledo, D. Ambriz. "Deriva de células epiteliales de tejido de piel descongelado de ovis canadensis mexicana para la formación de un banco de germoplasma" 2015. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 31(2): 275-282
- 10.- M. Rinnerthaler, J. Bischof, MK. Streubel, A. Trost, K. Richter. "Oxidative stress in aging human skin. Biomolecules". 2015 Apr 21;5(2):545-89.
- 11.- B. Vargas, D. Ambriz, M.C. Navarro, A. Trejo, G. Rodríguez y M.R. González, "Manejo de animales de bioterio de la UAM-I", Universidad Autónoma Metropolitana Unidad (México, D.F, 2018), pp. 47-
- 12.- JR. Vazquez , S. Hernández, S. Hernandez-Pichardo, JA. Rivera-Rebolledo D. Ambriz, MC. Navarro-Maldonado. "Efecto del uso de medio secuencial humano en la producción de blastocistos de hembra Ovis canadensis mexicana por clonación manual interespecies. 2017. Acta Zoológica Mexicana (n.s.), 33(2), 328-338.
- 13.- R. Wong, S. Geyer, W. Weninger, JC. Guimberteau, JK. Wong . "The dynamic anatomy and patterning of skin". Exp Dermatol. 2016 Feb;25(2):92-8.

MÉTODO BIOINTENSIVO DE ALIMENTOS: UNA ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE

Lucelia Mora Ojendiz , Yair Enrique Solís Evangelista, Cesar Cristobal Hernandez, Eugenia Pacheco Cantu
Universidad Intercultural del Estado de Guerrero
lucy-uaaan@hotmail.com

RESUMEN

El método biointensivo de alimentos es una alternativa en la producción de alimentos, basado en prácticas que buscan impactar lo menos posible al ambiente, pero al mismo tiempo busca la obtención de más alimentos en menos espacio, esto debido a los principios que rigen este sistema. Además es importante señalar que la producción de nuestros propios alimentos nos garantiza conocer la calidad de los mismos, así como reducir la dependencia de insumos externos, porque así como lo señala Jeavons (2002) el huerto familiar es un sistema de producción para obtención de más alimentos en menos espacio, basado en la utilización de insumos locales, sin maquinaria ni fertilizantes o insecticidas comerciales, para evitar daños al ambiente o a la salud de mujeres, hombres y los ecosistemas. Además, no se trata solo de los recursos naturales, sino también de la compleja situación económica, nutricional y social que padecen las diferentes generaciones y sociedades. En este contexto, la realización de estas actividades es una práctica importante para implementar toda la información y conocimiento acumulado durante la formación profesional universitaria, pero sobre todo para seguir aprendiendo e integrarse en las actividades reales de la sociedad, por esta razón el presente trabajo describe las actividades realizadas concernientes al método biointensivo como una alternativa viable para la producción sustentable, en las instalaciones de la Universidad Intercultural del Estado de Guerrero, ubicada en la comunidad de La Ciénega, Malinaltepec, Guerrero. Actividades como selección del lugar, limpieza del terreno, delimitación del área de camas de cultivo, elaboración de camas biointensivas, siembra de semillas de especies agrícolas (rábano, zanahoria y cilantro) y elaboración de bocashi, con el fin de conocer que tan factible es la aplicación en campo de este método.

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica es indispensable para mantener la fertilidad del suelo. De ahí que su incorporación en forma de abono es indispensable en sistemas de producción ecológica. Esta práctica, en conjunto con otras como: las obras de conservación de suelos, la adecuada rotación y asociación de plantas, la diversificación del cultivos en el tiempo y en el espacio, entre otras, y nos aseguran el alcance de un equilibrio en el sistema por lo tanto, una producción continua es decir, la posibilidad de sembrar todo el año y por muchos años (Picado y Añasco, 2005).

Hoy en día la producción de alimentos requiere de una gran cantidad de insumos que encarecen los productos, además de que estos impactan negativamente al medio, tal como es el caso de la basura inorgánica que dejan los envases de los agroquímicos, así como la contaminación del agua, suelo, entre otros. Por tal motivo la agricultura orgánica es una alternativa de producción que trata de evitar al máximo el uso de productos químicos, pero que además busca reducir la dependencia de insumos externos, en este sentido la fertilización orgánica es una parte importante dentro del sistema de producción, debido a que utiliza recursos disponibles en el medio, además de utilizar aquellos que en muchas ocasiones se consideran como desechos e bajo este contexto la fertilización orgánica en los cultivos agrícolas representa una alternativa viable en la producción de alimentos sanos. Precisamente ante este contexto, es importante la implementación de prácticas que mitiguen la problemática ambiental que genera la agricultura, por esta razón la agricultura orgánica representa una alternativa para la producción de alimentos libres de agroquímicos, en este sentido la realización del servicio social realizado sobre esta temática, representa una pequeña contribución sobre la importancia de la aplicación de prácticas agroecológicas por del ambiente.

PARTE EXPERIMENTAL

Para la realización de las actividades se consiguieron los materiales o herramientas en la misma universidad, los cuales fueron solicitados en el almacén de la licenciatura en Desarrollo Sustentable, dichos materiales fueron azadón, biello, pala, pico, cinta métrica, vernier digital, regla graduada, báscula, además de cámara fotográfica, libreta de apuntes, entre otros.

Además, se consiguieron los materiales requeridos para el establecimiento del trabajo como el estiércol de chivo, carbón, levadura, melaza, forraje seco y verde, nailon, entre otros, dependiendo del abono orgánico a preparar, además de la obtención de semillas de cilantro, rábano y zanahoria.

Preparación del terreno

Para la preparación de terreno primero se realizó el cercado del espacio para evitar que entraran los animales y dañaran el cultivo, posteriormente se delimitó el espacio que ocuparían cada una de las camas de cultivo.

Establecimiento de camas de cultivo

Se midió el perímetro de cada cama, estableciendo 5 camas de 5 m de largo por 1.20 m de ancho, dentro de cada cama se establecieron 3 cuadrantes más pequeñas, con dimensiones de 1 m por 1 m (Figura 1).



Figura 1. Medición de camas de cultivo.

Aplicación de abonos orgánicos, para este caso se utilizó estiércol de chivo, el cual se aplicó a cada una de las camas de cultivo (Figura 2).



Figura 2. Aplicación de estiércol de chivo.

Siembra

Una vez preparadas las camas, se procedió a sembrar las semillas del rábano, cilantro y zanahoria.



Figura 3. Siembra de semillas.

Riego

Se regó diariamente durante un mes, de forma manual como riego de aspersión, consiste en aplicar el agua al suelo simulando una lluvia, este efecto es conseguido gracias a la presión en que fluye el agua dentro de una manguera es expulsada al exterior por la presión del dedo (Figura 4).



Figura 4. Riego.

Cosecha

Una vez que el cultivo culmino su ciclo fenológico, se procedió a cosechar los rábanos de cada una de las camas de cultivo tomando en cuenta los días a cosechar que marca la variedad de semilla utilizada, en este caso 35 días después de la siembra, además de tomar en cuenta el tamaño de las plantas (Figura 5).



Figura 5. Cosecha de rábano.

Elaboración de abonos orgánicos

Los abonos orgánicos que se elaboraron fueron composta y bocashi, además de la obtención del estiércol de chivo.



Figura 6. Picado de material verde.



Figura 7. Volteo de materiales para composta.

RESULTADOS

Camas de cultivo

La producción de hortalizas se sembraron en fechas diferentes, la primera fue la siembra de semillas de rábano durante el mes de octubre, la segunda siembra fue de cilantro durante el mes de diciembre del mismo año y por último se sembró la semilla de zanahoria durante el mes de enero, estableciendo 5 camas de 5 m de largo por 1.20 m de ancho, dentro de cada cama se establecieron 3 cuadrantes, con dimensiones de 1 m x 1 m (Figura 8).



Figura 8. Camas de cultivo.

Abonos orgánicos

Se elaboraron los siguientes abonos orgánicos, composta (Figura 9) y bocashi (Figura 10). Para elaborar los abonos se guio del procedimiento mencionado en la Huertina de Toni ,2017 hasta obtener la cosecha. El abono orgánico (composta) dio un total de 75 kg, mientras el (bocashi) obtuvo una cantidad de 45 kg.



Figura 9. Elaboración de composta.



Figura10. Elaboración de bocashi.

Cosecha

En la cosecha de las especies cultivadas se pudo observar que de forma general la aplicación de abonos orgánicos en las camas de cultivo propicio que la planta emergiera, creciera y diera mejores resultados en comparación con los espacios en donde no se aplicó nada. Esto comprueba que los abonos son efectivos pese a que no se contó con una sistematización de los datos obtenidos.

De las tres especies cultivadas (rábano, cilantro y zanahoria) se puede decir que efectivamente se recomienda la aplicación de los abonos orgánicos en cualquiera de sus presentaciones, sin embargo es importante mencionar que el rábano fue el cultivo que mejor se desarrolló, seguido del cilantro, la zanahoria por su parte presentó un crecimiento menor, esto pudo deberse al manejo agronómico a y a las condiciones en que fueron establecidos.

A pesar de que no se presentan datos cuantitativos de los resultados, se pudo observar que las unidades experimentales o cuadrantes a los que se les aplicó abonos orgánicos las plantas crecieron y se desarrollaron mejor, obteniendo plantas vigorosas y rábanos más grandes. A partir de esta observación se puede constatar la importancia de la aplicación de abonos orgánicos en la producción de alimentos.

CONCLUSIONES

Una vez culminadas las actividades del método biointensivo, se puede constatar que el uso de abonos orgánicos es una practica sustentable y viable, la cual ayuda no solo a los cultivos sino también al suelo, debido a que poco a poco mejora su fertilidad, obteniendo así mejores resultados en cuanto a la producción.

BIBLIOGRAFÍA

1. La huertina de Toni (2017). Elaboración de abonos orgánicos (Bocashi). Procedimiento para obtener un buen abono orgánico. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=dhAEFRofNEk>
2. Picado Jaime. Y Añasco Alfredo. (2005). Preparación y uso de Abonos orgánicos sólidos y líquidos. Corporación Educativa para el Desarrollo Costarricense (CEDECO).

ANÁLISIS COMPARATIVO DE HARINAS OBTENIDAS DE GUAYABA

Francisco Javier Jiménez Rodríguez, Consuelo de Jesús Cortés Penagos, Berenice Yahuaca Juárez, Liliana Márquez Benavides.

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán. México
consuelo.cortes@umich.mx

RESUMEN

La industria de la guayaba es muy importante tanto a nivel local como a nivel nacional. El estado de Michoacán ocupa el primer lugar nacional en producción de este fruto, que se consume principalmente en fresco. La cultura de la guayaba, en el estado, involucra: tradición cultural, generación de empleos, impulso a la economía local, exportación y uso de ingredientes locales. El aprovechamiento de los residuos de la industria en la elaboración de dulces de guayaba implica enfrentar el problema de contaminación y la posibilidad de obtención de subproductos. Las alternativas de uso de la guayaba, requiere estudios que permitan conocer la composición fisicoquímica y, sobre todo, nutrimental, para proponer sus aplicaciones (Athayde A.M. y col. 2014; Silva-Vega M. y col. 2017). En el presente trabajo utilizamos semilla de guayaba fresca, y semillas de guayaba, residuo de una empresa que procesa el fruto para la elaboración de jugos y dulces típicos. El análisis fisicoquímico de la semilla en fresco, la semilla residuo y la correspondiente harina obtenida de cada una, permitirá conocer su composición y proponer su mejor uso (Silva-Vega M. y col. 2017). El material de estudio, semillas de guayaba, desecho de la industria de producción de dulces y jugos y como comparativo, se analizó también, la semilla a partir de fruto fresco, obtenido en un mercado local de la ciudad de Morelia, al cual se trató de la siguiente forma: extracción y lavado de materia prima (semillas de guayaba fresca); pesaje de materia prima utilizando balanza analítica; descolado y despulpado de manera manual. Las semillas (ambas), se sometieron a deshidratación por flujo de aire caliente, a 70°C; molienda y tamizado hasta un tamaño de partícula de 0.4 mm, obteniendo la harina correspondiente en cada caso. El análisis comparativo de ambas harinas se basa en las siguientes determinaciones: Humedad, Cenizas, Extracto etéreo, fibra cruda, absorción de agua y absorción de aceite. Las harinas estudiadas, tienen composición similar, principalmente en el contenido de grasa, absorción de agua y aceite; esto permite considerar al residuo de guayaba como una opción para obtener harina de un subproducto que es desechado, esta harina, puede ser utilizada en la elaboración de alimentos de consumo humano y/o animal, con un contenido alto de grasa y proteína principalmente.

INTRODUCCIÓN

Para el estado de Michoacán, la guayaba es un cultivo de importancia comercial y de alto valor nutricional, ya que el fruto proporciona vitaminas A, C y E, alto contenido antioxidante y fibra. El fruto se consume principalmente en fresco, sin embargo, se le ha otorgado un valor agregado a través de la elaboración de dulces, jugos, jaleas, entre otros, representando una contribución económica importante para el estado, con un impacto relevante desde el punto de vista turístico.

El procesamiento agroindustrial de la guayaba tiene como consecuencia la generación de subproductos (residuos), uno de los más importantes por la cantidad obtenida son las semillas, las cuales por lo general se desechan convirtiéndose en un problema de contaminación orgánica. Así, el aprovechamiento agroindustrial de las semillas de guayaba es una alternativa que puede abordar varios problemas, entre ellos disminuir la contaminación. Una alternativa es proponer el desarrollo de una matriz alimentaria de aplicación en la misma industria, tal es el caso de la elaboración de harina de residuos de guayaba, que una vez que se evalúen sus características fisicoquímicas, bromatológicas, nutricionales y tecno-funcionales, podrían definirse sus usos potenciales.

Parte de la dieta habitual del mexicano está referida al consumo de alimentos a base de trigo, la harina de trigo es deficiente en aminoácidos esenciales, particularmente lisina y triptófano y es

baja en fibra debido al proceso de refinación al que se enfrenta (Trejo Rodríguez I. S., y col. 2018),

además de contener gluten. Una alternativa a la harina de trigo o como sustituto parcial a esta, sería la harina de los subproductos de la agroindustria del fruto de guayaba, ya que posee un valor nutricional importante: altos en proteínas y aminoácidos esenciales (Lisina y Triptófano), antioxidantes, carbohidratos complejos, fibra dietaria, adecuado balance en minerales y son bajos en grasa y calorías. Es importante destacar que las semillas de guayaba poseen un alto contenido proteico, representando una oportunidad de mejora alimenticia con impacto en la seguridad alimentaria nutricional. Adicionalmente, por su alto contenido en compuestos antioxidantes se le atribuye un efecto protector ante enfermedades crónico-degenerativas: cardiovasculares, obesidad, diabetes y cáncer (Silva Vega M, y col. 2017).

Una vez que se obtiene el producto primario de la industria procesadora de la fruta de guayaba, los subproductos o residuos pueden ser deshidratados y molidos para obtener un pulverizado, el cual puede comprenderse como matriz alimentaria “harina”. Es importante mencionar que la harina se caracterizará por una mayor concentración de nutrientes (vitaminas, proteínas y carbohidratos) en comparación al fruto fresco, ya que la deshidratación del subproducto conlleva a la pérdida de humedad y en consecuencia se incrementa la concentración de los nutrientes mencionados. Por otra parte, las propiedades tecno-funcionales de las harinas dependen particularmente de la modificación que sufren tanto el almidón como las proteínas durante la cocción y molienda de la fruta. Estas propiedades tecno-funcionales pueden ser categorizadas con base en su interacción con el agua, interacciones intermoleculares y su capacidad para interactuar con moléculas no-polares (Luzardo-Ocampo I. y col. 2022), reflejándose en parámetros como: densidad aparente, capacidad de absorción de agua y capacidad de solubilidad en agua, entre algunos otros parámetros (Torres González y col., 2016). De lo anterior dependerán sustancialmente las propiedades que tengan las harinas para funcionar como tales (textura, rendimiento, humectación, etc.) y en qué tipo de formulaciones podrán ser utilizadas para el desarrollo de nuevos productos alimenticios: tortillas, panes, galletas, pastas, entre otros.

Con base en lo expuesto con anterioridad, el objetivo del presente trabajo fue obtener harinas obtenidas de semillas de fruto fresco de guayaba y de semillas residuo de guayaba y comprar estas harinas.

PARTE EXPERIMENTAL

Material de estudio. El material de estudio consistió en el subproducto “semillas de guayaba”, residuo generado por una de las industrias que procesan frutas para obtención de pulpa y elaboración de dulces regionales en Morelia, Michoacán. El subproducto “semillas de guayaba” se obtuvo tras someter al fruto de guayaba entero a cocción, seguido de la separación de la pulpa de las semillas, éstas últimas se desechan como residuo (Fig. 1). Estas semillas de guayaba (subproducto) se recolectaron y se trasladaron al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Químico-Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Morelia, Michoacán. Se empacaron al vacío y se almacenaron a 4°C para su conservación (Fig. 2). El control fue “semillas de guayaba fresca”. Para su obtención se adquirieron frutos de guayaba en un mercado local de la Cd. De Morelia, Michoacán; de las cuales, en el laboratorio de Biotecnología, se cortó la fruta en mitades, se extrajeron las semillas y se separó el “casco” (Fig. 3).



Figura 1. Semillas de guayaba, residuo del procesamiento del fruto para la obtención de pulpa.



Figura 2. Semillas de guayaba residuo, almacenadas al vacío y en refrigeración.

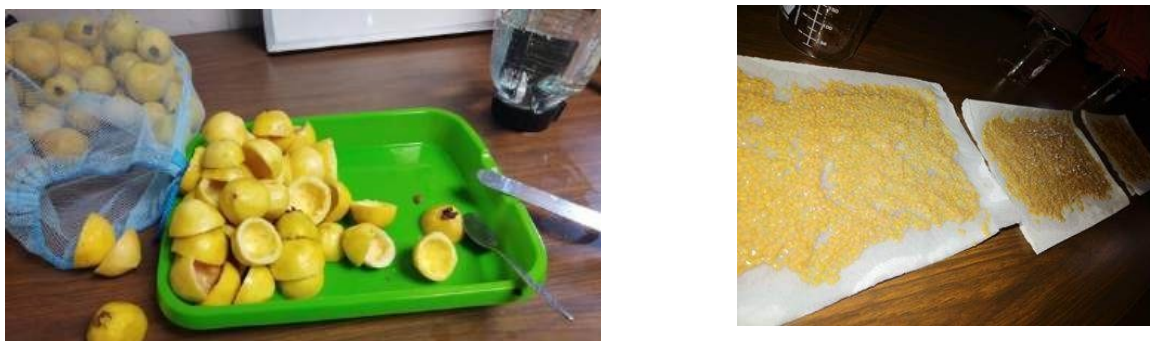


Figura 3. Cascos y semilla de guayaba en estado fresco.

Obtención de la matriz alimentaria harina. El subproducto “semillas de guayaba” y las semillas control se llevaron a deshidratación en un deshidratador Hamilton Beach por flujo de aire caliente a 70°C durante 6 horas (Fig. 4), posteriormente se molieron y cribaron hasta un tamaño de partícula de 0.4 mm, obteniéndose la harina correspondiente (Fig. 5).



Figura 4. Deshidratación por flujo de aire.



Figura 5. Cribado y obtención de harina.

Caracterización de la semilla de guayaba en fresco (control), el subproducto total “semillas de guayaba” y la matriz alimentaria harina. Los materiales de estudio se caracterizaron a través de un análisis químico proximal: Humedad, Método oficial 934.01 de la AOAC 2000; Cenizas, Método señalado por la norma NMX-F-066-S-1978; Grasa (cruda) o extracto etéreo, Método oficial de la AOAC 920.39 y Fibra dietaria total.

Evaluación de la tecno-funcionalidad de la matriz alimentaria harina. En las harinas se determinó la capacidad de absorción de agua (CAA), la capacidad de absorción de aceite (CAA) mediante el método descrito por (Anderson et al., 1969). Además, se evaluó el porcentaje de semillas para el fruto de guayaba en fresco (control) y el rendimiento en porcentaje de la harina obtenida del subproducto “semillas de guayaba y del control.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis de la semilla fresca (control) y el subproducto “semillas de guayaba”, así como de las harinas obtenidas a partir de ellas. La comparación entre semillas frescas y procesadas permite conocer la materia prima para obtención de harinas, en este sentido, el contenido de cenizas y grasa es mayor en subproducto “semillas de guayaba”.

En lo que respecta a las harinas obtenidas, tienen una composición similar en cuanto a grasa, cenizas, así como en los parámetros de tecno-funcionalidad capacidad de absorción de agua y aceite, parámetros que definen una harina, pudiendo ser utilizada para formular productos alimentarios. Finalmente, el contenido de fibra es superior en la harina obtenida del subproducto “semillas de guayaba”, lo cual la hace atractiva para su uso, ya sea para su consumo directo o bien para su incorporación en una formulación alimenticia, incrementando así el aporte de fibra.

Tabla 1. Análisis comparativo de propiedades fisicoquímicas de semillas y harinas de guayaba

Parámetro	Semillas frescas	Harina semilla fresca	Semilla procesada	Harina semilla procesada
Humedad (%)	62.57	3.52	29.73	5.55
Cenizas (%)	0.00006371	1.15	0.77	1.50
Grasa (%)	0.0004338	16.03	2.79	16.85
Fibra cruda (%)		27.64		64.49
Porcentaje de semillas	34.0667	No aplica	No aplica	No aplica
Rendimiento (%)	No aplica	3.38	No aplica	60
Capacidad de absorción agua (ml de agua/g de harina)	No aplica	3.62	No aplica	3.65
Capacidad de absorción de aceite	No aplica	2.10	No aplica	3.13

CONCLUSIÓN

Utilizar fruto de guayaba con un alto contenido de semillas (37 %), permitió comparar tanto las semillas como las harinas obtenidas de fruto fresco y del subproducto “semillas de guayaba” (residuo industrial). Ambas harinas presentan un aporte en grasa y cenizas similares. En la tecnofuncionalidad dada por la capacidad de absorción de agua y aceite, también se observó un comportamiento similar. El parámetro más importante fue el aporte de fibra en el subproducto “semillas de guayaba”, el cual puede ser aprovechado, para utilizarlo como matriz alimentaria harina, cuyo uso puede ser para alimentación humana o de uso veterinario.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ana Maria Athayde, Eldina Castro Sousa, José Osvaldo Beserra Carioca, Selene Maia de Moraes, Alessandro de Lima, Clécio Galvão Martins, Cristiane Duarte Alexandrino, Pablito Augusto Travassos Ferreira, Ana Livya Moreira Rodrigues, Suliane Praciano Rodrigues, José Celso de Albuquerque Thomaz, Jurandy do Nascimento Silva, Larissa Lages Rodrigues. (2014) Chemical composition, fatty acid profile and bioactive compounds of guava seeds (*Psidium guajava* L.). Food Sci. Technol, Campinas, 34(3): 485-492, <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6339>
2. Silva-Vega Mónica, Bañuelos-Valenzuela Rómulo, Muro-Reyes Alberto, Esparza-Ibarra Edgar y Delgadillo-Ruiz Lucía. (2017) Evaluación de semilla de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa en la nutrición ruminal. Abanico Veterinario ISSN 2448-6132 Editorial Sergio Martínez González <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2017.71.2>
3. Luzardo-Ocampo Ivan, Ramírez-Jiménez Aurea K., Cabrera-Ramírez Angel H., Rodríguez- Castillo N., Campos-Vega Rocio, Loarca-Piña Guadalupe, Gaytán-Martínez Marcela. Impacto of cooking and nixtamalization on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds from two sorghum varieties. Food Chemistry, Vol. 309, 30 March 2020, 125684.
4. Torres González J.D., González Morelo K.J., Acevedo Correa D., Jaimes Morales J.D.C, (2016). Efecto de la utilización de harinas de *Lens culinaris* como extensor en las características físicas y aceptabilidad de una salchicha. Revista Tecnura, 20 (48), 15-28. DOI:10.14483/udistrital.jor.tecnura.2016.3.A01
5. Trejo Rodríguez Ibna Suli, Méndez Tello Graciela, Algara Suárez Paola, Ruiz Cabrera Miguel Ángel, González García Raúl, Grajales Lagunes Alicia. Obtención de harina a partir de semillas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus*): caracterización química y evaluación de sus propiedades funcionales. Memorias del XXXIX Encuentro Nacional de la AMIDIQ 1 al 4 de mayo 2018, San José del Cabo, BCS. © Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química ISBN 978-607-95593-6-6

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INHIBICIÓN DEL HONGO *FUSARIUM* SP. MEDIANTE TERAPIA FOTODINÁMICA CON ROSA DE BENGALA Y AZUL DE METILENO

Juan Carlos Ramírez Granados, César Díaz Pérez, Jorge Daniel Zepeda Quintana

Universidad de Guanajuato

jcramirez@ugto.mx

RESUMEN

Actualmente, se estima que la población mundial rebasa los 8,000 millones de personas y producir los alimentos que requieren es un reto mayor. Para satisfacer las necesidades alimentarias de la población es indispensable la producción eficiente de los cultivos agrícolas. No obstante, maximizar la productividad de los cultivos no es una tarea trivial ya que pueden ser afectados por diversos factores tales como las condiciones ambientales extremas, la falta de humedad y la deficiencia de nutrientes en el suelo; además de las plagas de insectos, bacterias y hongos fitopatógenos. En la naturaleza existen una gran diversidad hongos fitopatógenos que pueden infectar a especies de plantas específicas o a múltiples especies. Los hongos capaces de infectar a múltiples huéspedes son los más peligrosos ya que tienen el potencial de acabar con cultivos completos en todo el mundo, reduciendo significativamente la cantidad y calidad de los alimentos disponibles para la población. El género *Fusarium* se encuentra entre los 10 hongos fitopatógenos con mayor afectación en los cultivos debido a que se encuentra distribuido prácticamente por todo el mundo; además de causar una amplia gama de enfermedades en diversos tipos de plantas, llegando a acabar con cosechas enteras. El control de estos hongos fitopatógenos usualmente es realizado mediante efectivos fungicidas químicos. Sin embargo, cuando los fungicidas químicos nos son aplicados de manera correcta pueden representar un riesgo para la seguridad alimentaria y para la biodiversidad debido a su toxicidad. Por esta razón, en este trabajo proponemos un método alternativo y más seguro para inhibir el crecimiento del hongo *Fusarium* sp. mediante terapia fotodinámica antimicrobiana empleando rosa de bengala o azul de metileno como fotosensibilizadores. Para este propósito, se cultivaron muestras de *Fusarium* sp. hasta que alcanzaron un desarrollo inicial. Luego, estas muestras de hongos se distribuyeron en 3 grupos, uno de los cuales se usó como control. A los dos grupos restantes se les aplicaron tratamientos de terapia fotodinámica con rosa de bengala al 1% o con azul de metileno al 3%, respectivamente. Después, se midió diariamente el diámetro del micelio de todas las muestras para evaluar su crecimiento. Los resultados muestran que ambos tratamientos inhibieron el crecimiento del hongo. Más aun, el tratamiento de terapia fotodinámica con rosa de bengala logró inhibir el crecimiento de los hongos en dos días menos que el tratamiento con azul de metileno. Finalmente, se puede decir que la efectividad de la terapia fotodinámica para el control de los hongos fitopatógenos depende del tipo de fotosensibilizante y del microorganismo que se desea inhibir.

INTRODUCCIÓN

La terapia fotodinámica (TFD) se basa en el uso de sustancias conocidas como fotosensibilizantes (FS) que se acumulan selectivamente en células tumorales o microorganismos, para luego ser activadas por luz con una longitud de onda específica. En presencia de oxígeno, este proceso induce la muerte celular por necrosis o apoptosis, mientras que los tejidos sanos circundantes no resultan dañados. Este mecanismo de acción se basa en la generación de especies reactivas de oxígeno, principalmente oxígeno singlete, que al reaccionar con estructuras celulares provoca la muerte celular (Aspiroz *et al.*, 2011).

Los tratamientos de terapia fotodinámica están en etapa de desarrollo e implementación, y de hecho gran parte de los esfuerzos realizados hasta ahora en el campo de la terapia fotodinámica han sido enfocados hacia el área de la salud, en particular hacia el desarrollo de tratamientos alternativos contra el cáncer. Menos atención ha recibido el desarrollo de tratamientos eficaces contra microorganismos patógenos tales como los hongos del género *Fusarium* (Aspiroz *et al.*, 2017) que pueden afectar a una amplia variedad de plantas y generar una gran variedad de enfermedades en diferentes cultivos.

Este trabajo se orienta a la inactivación de hongos que pueden estar presentes en frutos y plantas, buscando así soluciones más accesibles para la agricultura y el sector alimentario mediante terapia fotodinámica antimicrobiana y agentes fotosensibilizantes eficaces, económicos y accesibles. En específico, aquí se evaluó la capacidad de la terapia fotodinámica antimicrobiana para inhibir el crecimiento del hongo *Fusarium* sp. *in vitro*. Para este propósito se cultivaron varias muestras de *Fusarium* sp. en cajas Petri con medio de cultivo PDA hasta que alcanzaron un desarrollo inicial y se midió su diámetro. Luego, las muestras se rociaron con un agente fotosensibilizante para después ser irradiadas con radiación visible durante varios periodos luminosos y de oscuridad; mientras que al mismo tiempo se monitoreo diariamente el diámetro de los hongos para evaluar la efectividad de los tratamientos.

TEORÍA

Terapia fotodinámica antimicrobiana

En la terapia fotodinámica antimicrobiana el huésped infectado por el microorganismo patógeno es rociado con un agente fotosensibilizante que luego es estimulado por radiación luminosa con la longitud de onda apropiada para inducir la formación de radicales libres que causan la necrosis del patógeno. La terapia fotodinámica antimicrobiana requiere de la combinación de la radiación luminosa, oxígeno y una sustancia fotosensibilizante para erradicar a los microorganismos patógenos.

Agentes fotosensibilizantes

Un agente fotosensibilizador es una sustancia que, al ser irradiada con radiación ultravioleta (UV) o visible, lleva sus moléculas a un estado electrónicamente excitado. Estas moléculas excitadas pueden generar especies altamente reactivas, ya sea por sí mismas o mediante transferencia de energía, electrones o átomos de hidrógeno a otro sustrato. Los agentes fotosensibilizadores pueden ser compuestos orgánicos sintetizados en laboratorio o sustancias de origen natural, con diversas estructuras químicas. (Comini, 2016). Los agentes fotosensibilizadores son fundamentales en la terapia fotodinámica y se clasifican en tres generaciones: primera, segunda y tercera. Cada generación tiene diferencias notables en su velocidad de eliminación: la primera generación tiene una eliminación más lenta, la segunda es más rápida, y la tercera, aún más veloz. (Gómez Ayala, 2009).

Una de las principales ventajas del uso de fotosensibilizadores se enfoca en el carácter inocuo sobre el organismo hospedero de los patógenos debido a que la alteración en las estructuras celulares fúngicas es local y por un periodo de tiempo corto evitando causar fototoxicidad en el huésped (Nyman & Hynninen, 2004). Sin embargo, una desventaja de los fotosensibilizadores es que no todos tienen la capacidad de adherirse a las células de los hongos. Debido a lo anterior, se considera que los fotosensibilizadores catiónicos son los más eficientes debido a su alta afinidad por los tejidos celulares debido la diferencia de cargas eléctricas.

Reacciones tipo I y tipo II en la terapia fotodinámica

Según Comini & Nuñez (2016), existen sustancias que al ser activadas por la luz ejercen una acción biológica, ya sea en presencia o ausencia de oxígeno. Aquellas sustancias que requieren oxígeno para su acción biológica se utilizan para generar especies reactivas de oxígeno (ERO's), siendo útiles en tratamientos para tumores e infecciones. Se ha demostrado que algunas estructuras químicas de origen vegetal tienen la capacidad de generar ERO's bajo irradiación lumínica, mostrando potencial para su uso en ciencias farmacéuticas por su potencial en aplicaciones terapéuticas. Cuando los fotosensibilizantes se administran controladamente en organismos vivos, estos agentes pueden ser eficaces para el tratamiento de diversas patologías, incluyendo sus aplicaciones antibacterianas, antifúngicas, antivirales y anticancerígenas.

Los agentes fotosensibilizadores se clasifican según su mecanismo de acción en dos tipos: fotodinámicos y no-fotodinámicos. Los primeros requieren la presencia de oxígeno, mientras que los segundos no.

Los fotosensibilizadores no-fotodinámicos pueden actuar sin oxígeno, donde su acción se basa en la fotoactivación para pasar a un estado electrónicamente excitado ($^1FS^*$) que se une al ADN mediante un proceso llamado fotoadición. Este proceso crea fotoaductos covalentes que interfieren con la replicación y transcripción del ADN, y consecuentemente, la síntesis de ARN y proteínas. Este mecanismo puede ser útil para el tratamiento de enfermedades como psoriasis y vitíligo, aunque su uso prolongado puede tener efectos adversos, como daños cutáneos con riesgo de carcinogénesis y mutagénesis. Los agentes fotosensibilizadores no-fotodinámicos más conocidos son el Psoraleno y sus derivados, con terapias como la PUVA (Psoraleno y radiación UVA). Las plantas que contienen estos compuestos generalmente son consideradas alergénicas, por ejemplo, la ruda y el higo.

Por otro lado, los fotosensibilizadores fotodinámicos requieren luz y oxígeno para generar especies reactivas, como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y el oxígeno singlete ($^1O_2$). La primera etapa de esta reacción implica la absorción de radiación ultravioleta o visible por el fotosensibilizador, que posteriormente genera ERO's a partir del oxígeno molecular. Las ERO's atacan con frecuencia los ácidos grasos insaturados en las membranas celulares, causando peroxidación lipídica y muerte celular. Debido a estas propiedades, estos fotosensibilizadores se utilizan en la terapia fotodinámica para tratamientos anticancerígenos y antimicrobianos.

PARTE EXPERIMENTAL

Se preparó medio PDA (Papa-Dextrosa-Agar) de la marca Bioxon para la activación y cultivo de las muestras de *Fusarium* sp. Para este propósito, se disolvió el polvo de PDA en agua según la formulación del fabricante, generando 100 ml de este medio. Luego, la mezcla se calentó en un matraz Erlenmeyer para homogenizarla. De manera simultánea, se preparó la autoclave para esterilizar el medio a 121 °C durante 15 minutos para después llevar la mezcla a la campana de flujo laminar, donde se realizó el vaciado en cajas Petri estériles. Para el cultivo del hongo se utilizaron placas Petri de 100x15 mm. Cada caja Petri se llenó con aproximadamente 25 ml de medio. Después del vaciado, el medio PDA se dejó enfriar y solidificar a temperatura ambiente durante un día, Figura 1.



Figura 18. Preparación de cajas Petri con medio de cultivo PDA.

Este método para preparar el medio de cultivo PDA permitió que las muestras del hongo se desarrollaran en condiciones óptimas para favorecer su crecimiento.

El siguiente paso fue llevar las cajas Petri con medio PDA a la campana de flujo laminar para inocularlas con el hongo *Fusarium* sp. como se observa en la Figura 2. Las muestras del hongo fueron sembradas el día 16 de noviembre del 2023.

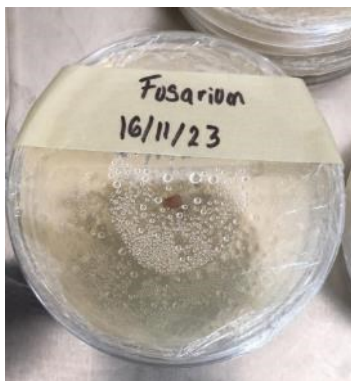


Figura 2. Muestra de hongo *Fusarium* sp. en medio PDA.

Posteriormente, las cajas Petri inoculadas fueron llevadas a la incubadora y almacenadas a una temperatura de 30 °C. El cultivo fue mantenido en incubación durante 4 días, permitiendo que el hongo alcanzara un desarrollo inicial que fue medido y registrado. Este entorno garantiza condiciones estériles que permiten prevenir la contaminación de las muestras y que se desarrollen sin ser afectadas por otros microorganismos.

Después de 4 días en la incubadora, el día 20 de noviembre del 2023 se abrieron las cajas Petri en la campana de flujo laminar y se añadió 1 ml de un agente fotosensibilizante a cada muestra. Como agentes fotosensibilizantes se utilizó azul de metileno (AM) al 3% o rosa de bengala (RB) al 1% (como se muestra en las Figuras 3 y 4), y se conservó una muestra sin fotosensibilizantes que fue irradiada de la misma manera que las otras muestras y que se usó como control. Este protocolo que incluyó la esterilización del equipo y la utilización de la campana de flujo laminar se realizó para incrementar la confiabilidad de los resultados del experimento, minimizando el riesgo de contaminación y proporcionando condiciones óptimas para el crecimiento del hongo y la aplicación de los agentes fotosensibilizantes.



Figura 3. Muestra de hongo *Fusarium* sp. rociada con del azul de metileno al 3%.

En esta muestra de *Fusarium* sp. se roció 1 ml de azul de metileno al 3% como agente fotosensibilizante. Esto inicialmente dificultó la visibilidad para medir el diámetro del micelio; sin embargo, con el paso de los días, la visibilidad mejoró, especialmente cuando la muestra se colocó a contraluz.



Figura 4. Muestra de hongo *Fusarium* sp. con de rosa de bengala al 1%.

A la siguiente muestra de *Fusarium* sp. se le roció 1 ml de rosa de bengala al 1% como agente fotosensibilizante, la visibilidad fue significativamente mejor que con el azul de metileno. A simple vista, se podía observar claramente el micelio del hongo, lo que facilitaría la medición de su diámetro una vez que se iniciara la irradiación luminosa.

Luego se preparó un dispositivo en donde se irradiaron las cajas Petri con las muestras del hongo ya con su respectivo agente fotosensibilizante, junto con la muestra de control. Para esto, se colocaron 2 soportes universales aproximadamente a 40 cm de distancia entre ellos. También se colocó un anillo de hierro en cada soporte a una altura de 20 cm. Sobre los anillos de hierro se colocó una lámpara LED que emite radiación luminosa roja de 660 nm y que fue conectada a un contacto eléctrico con temporizador, el cual se programó para que estuviera encendido durante 12 horas, seguidas de otras 12 horas en las que permanecía apagado. Debajo de la lámpara se colocaron las muestras de *Fusarium* sp. Diariamente se midió el diámetro de las muestras del hongo para después evaluar su crecimiento con respecto a la muestra de control.

RESULTADOS

Las mediciones realizadas en este experimento se basaron en varias observaciones a lo largo de dos semanas. Las muestras se revisaron regularmente una vez al día y se midió el tamaño de las muestras. En estas mediciones, el objetivo principal fue determinar el diámetro del micelio, procurando evitar su contaminación.

Se tuvo la precaución de mantener las condiciones de cultivo lo más estériles posible, por lo que las mediciones se hicieron sin romper el sello de las cajas Petri. Estas mediciones permitieron obtener datos para determinar si el diámetro del hongo aumentaba o se mantenía constante.

El seguimiento cuidadoso del crecimiento del hongo a través de estas mediciones proporcionó datos para la evaluación de su crecimiento, ya que a través del diámetro del hongo se determinó si se inhibía su crecimiento. A continuación, se muestran las mediciones obtenidas para las 3 muestras de hongos.

Tabla 1. Crecimiento de la muestra de *Fusarium* sp. usada como control.

Muestra de <i>Fusarium</i> sp. usada como control	
Fecha de medición	Diámetro del micelio (cm)
21/11/2023	4.0
22/11/2023	4.1
23/11/2023	4.5
29/11/2023	4.6
30/11/2023	4.6
01/12/2023	4.7

La Tabla 1 presenta desde la primera medición el 21 de noviembre de 2023, donde el diámetro fue de 4.0 cm, hasta la última medición registrada el 1 de diciembre de 2023 cuando la muestra alcanzó un diámetro de 4.7 cm. Estos datos indican que la muestra de control tuvo un crecimiento ininterrumpido.

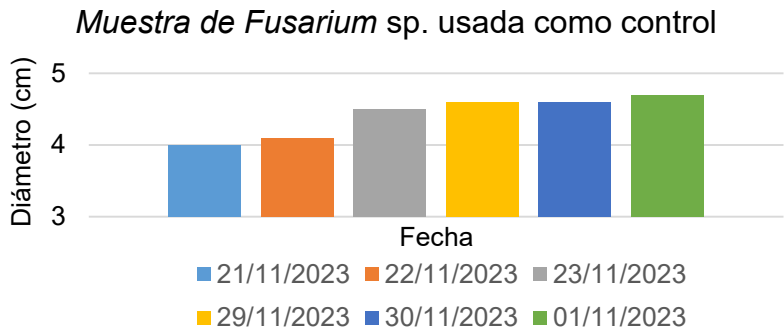


Figura 5. Diámetro de la muestra de *Fusarium* sp. sin fotosensibilizante y usada como control en los tratamientos de terapia fotodinámica.

En la Figura 5 se observa una clara tendencia de crecimiento en la muestra de *Fusarium* sp. usada como control a lo largo del período estudiado, alcanzando cerca de 4.7 cm de diámetro en el último día.

Tabla 2. Crecimiento de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y azul de metileno al 3%.

Muestra de <i>Fusarium</i> sp. tratada con TFD y azul de metileno al 3%	
Fecha de medición	Diámetro del micelio (cm)
21/11/2023	4.2
22/11/2023	4.3
23/11/2023	4.4
29/11/2023	4.5
30/11/2023	4.6
01/12/2023	4.7

La Tabla 2 muestra un crecimiento diario de aproximadamente 0.1 cm en el diámetro de la muestra tratada con TFD y AM al 3%. Este tratamiento redujo la tasa de crecimiento del hongo, en comparación con la muestra de control. El diámetro de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y AM al 3% se encuentra graficado en la Figura 6.

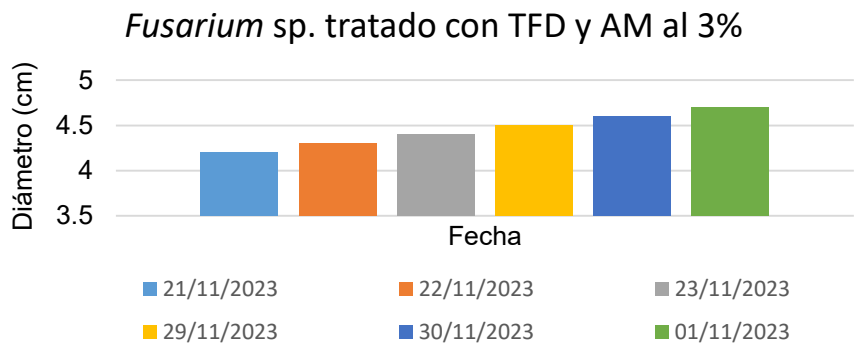


Figura 6. Diámetro de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y azul de metileno al 3%.

En la Figura 6 se observa que en los últimos días del tratamiento el diámetro de la muestra comenzó a crecer más lentamente. Esto sugiere que este tratamiento de TFD inhibió el crecimiento de hongo. En este caso, el diámetro del micelio sólo aumento 0.5 cm durante todo el periodo estudiado.

Tabla 3. Crecimiento de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y rosa de bengala al 1%.

<i>Fusarium</i> sp. tratado con TFD y rosa de bengala al 1%	
Fecha de medición	Diámetro del micelio (cm)
21/11/2023	4.8
22/11/2023	5.0
23/11/2023	5.5
29/11/2023	5.7
30/11/2023	5.9
01/12/2023	5.9

La Tabla 3 muestra el crecimiento de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y RB al 1%. Los datos demuestran que la muestra del hongo dejó de crecer el día 30 de noviembre de 2023. Lo anterior indica que este tratamiento también inhibió el crecimiento de *Fusarium* sp. Los datos de la Tabla 3 se encuentran graficados en la Figura 7.

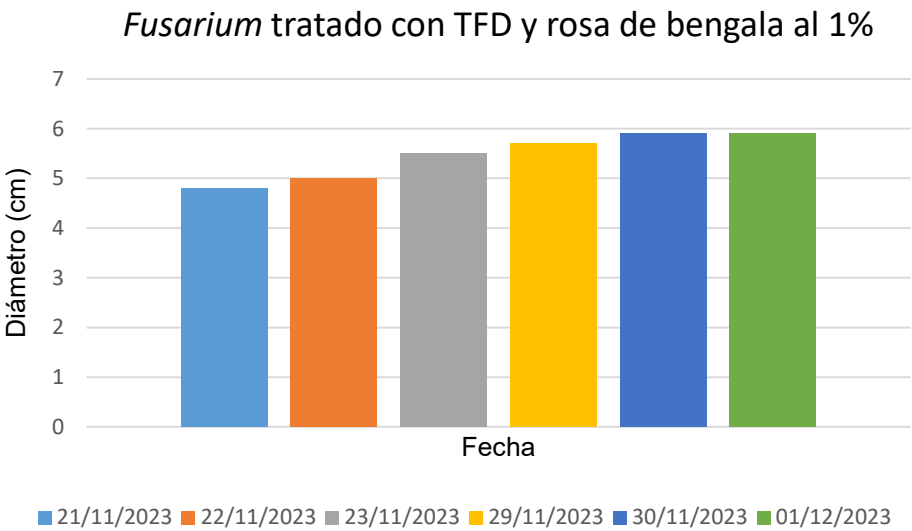


Figura 7. Diámetro de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y rosa de bengala al 1%.

En la Figura 7, se puede observar que el diámetro de la muestra tuvo un crecimiento lento. Además, es importante notar que el hongo dejó de crecer a partir de los dos últimos días del tratamiento.

Las Figuras 8 y 9 muestran imágenes de las muestras de *Fusarium* sp. después de 10 días de ser tratadas con TFD y rosa de bengala al 1% o con azul de metileno al 3%, respectivamente.

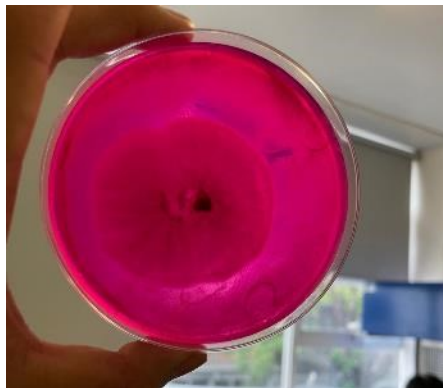


Figura 8. Estado final de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y rosa de bengala al 1%.

Al evaluar el crecimiento de esta muestra de *Fusarium* sp. se determinó que el hongo dejó de crecer después de 8 días de tratamiento, evidenciando el potencial de la TFD con RB al 1% para inhibir el crecimiento de este hongo.

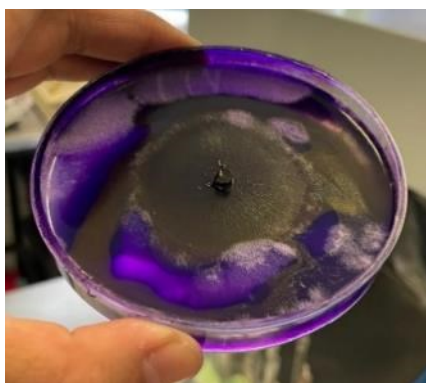


Figura 9. Estado final de la muestra de *Fusarium* sp. tratada con TFD y azul de metileno al 3%.

En la Figura 9 se observa el estado final de la muestra de *Fusarium* sp. después de ser tratada con TFD y azul de metileno al 3%. En este caso, la muestra dejó de crecer después de 10 días de tratamiento, logrando la inhibición de su crecimiento. También es importante notar en esta imagen que el fotosensibilizante fue absorbido de manera preferencial por el hongo y por esa razón se aprecia de un tono más oscuro que los espacios circundantes.

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró el potencial de la terapia fotodinámica antimicrobiana con agentes fotosensibilizantes como el azul de metileno y el rosa de bengala para controlar la proliferación del hongo *Fusarium* sp., ya que ambos tratamientos de TFD inhibieron el crecimiento. Más aun, el tratamiento de terapia fotodinámica con rosa de bengala logró inhibir el crecimiento del hongo en dos días menos que el tratamiento con azul de metileno. Con esto, se podría reducir el uso de fungicidas químicos que suelen dañar los suelos y que pueden contaminar los alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Guanajuato CCS por su apoyo para la realización de este proyecto; así como a Andrea Noemí Cabrera Coronado por su invaluable colaboración.

BIBLIOGRAFÍA

1. C. Aspiroz, B. F. Cebamanos, A. Rezusta, P. Paz-Cristóbal, F. Domínguez-Luzón, J. G. Díaz & Y. Gilaberte, (2011). "Terapia fotodinámica aplicada al tratamiento de las onicomycosis. Presentación de un caso y revisión de la literatura", *Revista Iberoamericana de Micología*, 28(4), pp. 191-193. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.03.004>
2. C. Aspiroz, M. Sevilla, C. Toyasc & Y. Gilaberte, (2017). "Photodynamic Therapy with Methylene Blue for Skin Ulcers Infected with *Pseudomonas aeruginosa* and *Fusarium* spp." *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 108(6), pp. e45-e48. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2016.11.020>
3. L. Comini, y S. Nuñez Montoya (2016). "Fotosensibilizadores naturales activos en terapia fotodinámica", <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/Bitacora/article/view/16316>
4. A. E. Gómez Ayala, (2009). "Fototerapia y fotodinámica: principales aplicaciones terapéuticas", <https://www.medwave.cl/revisiones/revisionclinica/3701.html>.
5. M. S. Nyman, (2004). "Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy", *J Photochem Photobio*, 73(2), pp. 1-28. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14732247/>

EFICACIA DE LA LUZ UV PARA LA INACTIVACIÓN MICROBIANA EN UN PROTOTIPO DE JUGO DE CAÑA DE AZÚCAR CON JENGIBRE Y SU CALIDAD NUTRICIONAL

María Fernanda Godínez-Amador, José de Jesús Flores-Sierra, Gustavo Hernández-Mendoza, Fátima Milagros Pérez-Aguirre y Alejandra Gutiérrez-Aguirre

Tecnológico Nacional de México/ITS Purísima del Rincón. Blvd. del Valle No. 2301, Guardarrayas, C.P. 36413, Purísima del Rincón, Guanajuato, México.
lrs19110277@purisima.tecnm.mx

RESUMEN

La caña de azúcar es una especie vegetal utilizada mundialmente, esta proporciona el 70% del contenido de azúcar a nivel global; Es empleada para la elaboración de múltiples productos para el consumo humano. Sin embargo, uno de sus productos poco conocido y estudiado es el jugo de caña de azúcar, el cual está, principalmente constituido por agua, sólidos solubles y compuestos bioactivos que tienen importante actividad biológica que, además, en combinación con jengibre, aumenta el valor agregado para la nutrición y protección de la salud humana. La inactivación microbiana por tecnología de luz Ultravioleta (UV) es útil como alternativa no térmica para prolongar la vida útil de los alimentos ya que no afecta significativamente las características fisicoquímicas y sensoriales. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue evaluar la eficacia de la tecnología de luz UV para la inhibición microbiana patógena de un prototipo de jugo de caña de azúcar con jengibre y medir su calidad nutricional durante 28 días de vida de anaquel.

Para medir la inactivación microbiana por medio de esta tecnología se colocaron 1000 mL de jugo de caña bajo luz UV (256 nm) durante 30 min (A1) y como control se usó el mismo jugo, pero sin tratamiento UV (A2). La vida de anaquel se evaluó cada 0,7, 14, 21 y 28 días. Cada prueba se realizó por triplicado.

Los análisis fisicoquímicos mostraron que en A1 y A2 no hubo cambios significativos en los valores de pH, los °Brix para los 28 días fue mayor en A1 que en A2 ($p < 0.03$) y la acidez fue mayor en A1 que en A2, aunque solo fue significativo los días 21 y 28.

El conteo (UFC) de bacterias aerobias se realizó conforme a la norma NOM-092 SSA1-1994. Se observó que A2 mostró una mayor cantidad de UFC que en A2 ($p < 0.03$) evaluado entre los 7 y 28 días.

El conteo de mohos y levaduras se realizó conforme a la norma NOM-111-SSA1-1994. Se identificó que A1 tuvo un mayor UFC entre los días 14 y 28 en comparación con A2 ($p < 0.04$).

La calidad nutricional de A1 y A2 durante la vida de anaquel mostró componentes bioactivos importantes: fenoles y flavonoides. A1 presentó mayor cantidad de fenoles totales en comparación con A2 ($p < 0.03$), pero no hubo diferencias en el contenido de flavonoides.

La actividad antioxidante fue evaluada por DPPH y FRAP. Estas pruebas no mostraron diferencias significativas entre A1 y A2, durante el periodo de 28 días.

En base a estos resultados, el tratamiento del jugo de caña con jengibre y con tecnología de luz UV redujo la carga microbiológica, manteniendo la calidad nutricional y sensorial, por lo tanto, esta tecnología puede ser usada como un tratamiento alternativo al procesamiento térmico.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* Linn), también conocida como “caña dulce o cañamiel” de tallo leñoso, es un cultivo conocido de la familia de las poáceas [1]. El significado “*Saccharum*” deriva de la palabra griega sákcharon que significa azúcar y se asocia con la producción de sacarosa. Esta se cultiva en regiones tropicales y subtropicales [2]. Brasil es el primer productor de caña de azúcar en el mundo, después la India [1] y México es el séptimo productor [3]. Un aspecto importante de la caña de azúcar es que ha sido utilizada en la medicina tradicional y popular en el tratamiento de diferentes enfermedades [4] ya que se ha observado que contine diversas funciones bioterapéuticas, como efecto hepatoprotector, antiinflamatorio, analgésico, antiperglucémico y diurético [4], [5].

La obtención del jugo de caña de azúcar es necesaria como materia prima para la obtención de

azúcar morena[2]. Estudios recientes han demostrado un creciente interés por consumir zumos de frutas con alto contenido en antioxidantes naturales, especialmente vitaminas y polifenoles. Análisis fitoquímicos por medio de HPLC han mostrado que el jugo de caña contiene ácidos fenólicos como: ácido hidroxicinámico [6] y ácido cafeico [7] . Al igual también se han identificado flavonas como apigenina [8], luteolina [9] y tricina [10].

La calidad del jugo de caña depende de factores tales como procesamiento, temperatura de pasteurización [11] y vida de anaquel [12]. Uno de los contaminantes preocupantes en el jugo de caña son los microorganismos patógenos, esto se debe a los procesos de obtención, envasado y vida de anaquel [13]. La inactivación bacteriana y enzimática tradicionalmente se realiza mediante el proceso térmico, sin embargo, este puede afectar las cualidades sensoriales y nutricionales [14]. Por lo tanto, el objetivo del presente proyecto fue aplicar tecnología de luz ultravioleta (UV) para la inactivación microbiana de un prototipo de jugo de caña y jengibre y evaluar su efecto en la calidad nutricional durante la vida de anaquel.

TEORÍA

La tecnología de luz ultravioleta elimina microorganismos patógenos del jugo de caña y jengibre conservando la calidad nutricional.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción del jugo de caña

Las cañas de azúcar (*Saccharum Officinarum*) se obtuvieron del municipio de Yuriria, Gto, se lavaron con una solución hipoclorada (10%) y se enjuagaron con agua para su uso. Para el proceso de extracción los tallos de caña de azúcar fueron prensados en un molino de alta eficiencia el cual pertenece a la empresa Cero Maya S.A.P.I de C.V. Para la preparación de jugo de caña con extracto de jengibre se preparó en una proporción de 3:100. Posteriormente fue filtrado y se almacenó a 4°C hasta su uso.

Aplicación de luz ultravioleta (UV)

Se colocaron 1000 mL de jugo de caña con jengibre bajo luz UV (256 nm) durante 30 min (**A1**) y como control se usó el mismo jugo, pero sin tratamiento (**A2**). La vida de anaquel se evaluó cada 0,7,14,21 y 28 días. Cada prueba se realizó por triplicado.

Características fisicoquímicas

pH

Se realizó según lo establecido en la **Norma Oficial Mexicana “Determinación de pH en alimentos” NOM-F-317-S-1978**, la cual se basa en la medición espectrométrica de la actividad de iones de hidrógeno presentes en una muestra de un producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro). Para ello se tomaron 10 mL de A1 y A2, y se colocaron en un potenciómetro de la marca HANNA, para obtener la medición de pH.

Grados Brix

Fue llevada a cabo según lo establecido por la **Norma Mexicana NMX-F-275-1992** “Determinación de grados brix (°Brix) en muestras de jugo de especies vegetales productoras de azúcar”, la cual establece que un °Brix representa el porcentaje en peso de sacarosa pura, en solución. Para ello se tomaron tres gotas de A1 y A2, se colocaron en el refractómetro azúcar/Brix de la marca SPER SCIENTIFIC con alcance de 0 a 32° Brix.

Acidez titulable

Se tomaron 5 mL de A1 y A2. Se diluyeron en 25 mL de agua destilada de forma individual, a cada muestra se le añadieron 5 gotas de fenolftaleína (1%), realizando la titulación con hidróxido de sodio

(0.1N). Hasta alcanzar un viraje color amarillo a rosa. Los mL gastados de hidróxido de sodio se calcularon mediante la siguiente formula:

$$\text{Acidez (g\%)} = (((V * N * \text{mEq})/m)) * 100$$

Donde:

V= mL gastados de hidróxido de

sodio N= Normalidad de hidróxido de

sodio

mEq= Miliequivalente (correspondiente al ácido

láctico) m= Cantidad pesada de la muestra.

Análisis microbiológico

La preparación de las muestras para el análisis microbiológico se realizó según lo establecido por la NOM-110-SSA1-1994:

Método de conteo de bacterias aerobias en placa

Para metodología microbiológica se usaron las indicaciones de la **NOM-092-SSA1-1994**. Como medio de cultivo se usó agar triptona-extracto de levadura (agar para cuenta estándar). A cada caja de Petri se le adicionaron 16 mL de medio de cultivo, 1 mL de A1 y en otra caja 1 mL de A2, se incubaron a 35°C por 48 h. Según lo establecido por la norma, las placas con menos de 25 colonias se realiza un conteo del número de unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en dicha disolución obteniendo la media y multiplicando por el factor de dilución; En cajas con más de 250 UFC, se cuentan las colonias en proporciones de la caja que sean representativas.

Método de conteo de mohos y levaduras

Para esta metodología se usó la **NOM-111-SSA1-1994**, según lo indicado, se usó agar papa-dextrosa. A cada caja de Petri se le adicionaron 16 mL de medio, 1 mL de A1 y en otra caja 1 mL de A2; Se colocaron a 27°C. El análisis de conteo se realizó después de 3 y 5 días de incubación, se seleccionaron solo aquellas cajas entre 10 y 150 UFC.

Evaluación de la calidad nutricional por medio de análisis cualitativo

Este análisis se realizó mediante el uso de reactivos que causan cambio de color y precipitación para la determinación de compuestos funcionales, para ello se realizó la siguiente metodología:

Flavonoides

En un tubo de ensayo se colocaron limaduras de magnesio, se añadió 2 mL de A1 y A2 de forma individual, posterior se adicionaron lentamente de 2 a 3 gotas de HCl concentrado. La aparición de una coloración naranja muestra una prueba positiva para estos compuestos [17].

Antocianinas

Se tomaron 2 mL de A1 y A2 en un tubo de ensayo de forma individual, se añadieron 1 mL de HCl (ácido clorhídrico) concentrado y se calienta a baño de agua hirviendo durante 15 min. La formación de una coloración roja se considera positiva para estos compuestos [17].

Alcaloides

Se colocó 1 mL de A1 y A2 en un tubo de ensayo de forma individual, se realizaron los siguientes ensayos: Wagner, Mayer, Erdman y Marquis. Se consideró una prueba en la aparición de un precipitado [17].

Fenoles totales

Se coloca 1 mL de A1 y A2 en un tubo de ensayo, se añadió 1 mL de cloruro férrico (5%) y se agitó. La formación de una coloración marrón verdosa se consideró positiva [17].

Cumarinas

Se midió en un tubo de ensayo 2 mL de A1 y A2, se agregaron 3 mL de hidróxido de sodio (10 %). La aparición de una coloración amarilla muestra una prueba positiva para cumarinas [17].

Quinonas

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de A1 y A2, se mezcló con 1 mL de solución de hidróxido de sodio (5%). Una coloración amarilla confirma la presencia de quinonas [17].

Grupos funcionales

1 mL de A1 y A2 se colocaron de forma individual en un tubo de ensayo y se adicionaron 3 gotas de carbonato de sodio (0.1 M). Una coloración amarilla se considera positiva para estos compuestos [17].

Anillos aromáticos

Se tomó 1 mL de A1 y A2, se colocan en un tubo de ensayo, se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico concentrado y 2 gotas de formaldehído. Una coloración roja o amarilla se considera positiva [17].

Azucares reductores (Fehling)

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de muestra con 1 ml del reactivo Fehling, llevándose a baño de agua hasta ebullición durante 5 minutos. Esta prueba se consideró positiva cuando la solución tornó a color rojo o mediante la aparición de un precipitado rojo [17].

Compuestos grasos

Se colocó en un tubo de ensayo 1 mL de A1 y A2, se mezcló con 1 mL de reactivo Sudan III y se colocó a baño de agua hasta evaporar el solvente. Se considera positiva ante la aparición de gotas o una película coloreada de rojo en las paredes del tubo de ensayo [17].

Proteínas (Biuret)

En un tubo de ensayo se colocó un 1 mL de A1 y A2, 1 mL del reactivo de Biuret. Se considera positiva ante la formación de una coloración violeta o rosa [17].

Análisis cuantitativo Fenoles totales

Se utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu de acuerdo con [15], adaptada a microplacas. Se realizó por triplicado para cada de las variantes de jugo de caña A1 y A2, en una dilución de 1:25. Se construyó una curva de calibración con ácido gálico entre 0-0.23 mg/mL y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico/mL de jugo de caña (mg EAG/mL). Se colocaron 20 µL de la dilución de cada jugo en los pocillos de una microplaca adicionados con 90 µL de agua destilada y 10 µL del reactivo Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos se añadieron 80 µL de carbonato de sodio (7.5%).

Se dejó reposar durante 30 minutos en la oscuridad y la absorbancia se midió a 765 nm en el espectrofotómetro de microplacas Thermo Scientific™ multiskan.

Flavonoides totales

Se determinó mediante la metodología de colorimetría descrita por [16], adaptado a microplacas. se realizó una dilución de 1:10 para las variantes del jugo de caña A1 y A2. se agregaron a los pocillos 50 µL de la dilución de A1 y A2, 7.5 µL de nitrato de sodio (5%), 125 µL de agua destilada y se dejó reposar durante 5 minutos en la oscuridad, transcurrido el tiempo se añadieron 15 µL de cloruro de aluminio (10%), esto se dejó reposando durante 5 minutos para finalmente añadir 50 µL de hidróxido de sodio el cual fue preparado al momento. Finalmente se midió la absorbancia a 510 nm en el equipo espectrofotómetro de microplacas Thermo Scientific™ multiskan. La concentración total de flavonoides totales en A1 y A2 se expresaron como mg equivalentes de catequina por mL de extracto (mg EC/mL), para lo cual se construyó una curva de estándar entre 0-0.1 mg/mL.

Actividad antioxidante

2,2-difenol-1 picrilhidrazilo (DPPH)

Se basó en el método propuesto por [8]. En breve, la mezcla de reacción se preparó utilizando 200 µL de DPPH (0.1mM) con metanol (80%) y 40 µL de cada variante de jugo preparada (A1 y A2), se dejaron reposar por 30 min en la oscuridad y a temperatura ambiente. Como control se colocaron 2mL de la solución de metanol con DPPH. Se midió la absorbancia a 517 nm en el equipo espectrofotómetro Thermo Scientific™ multiskan, la actividad antioxidante se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ ARA DPPH} = \left(\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right) * 100$$

Donde:

Acontrol= Absorbancia del DPPH en su forma radical (blanco)

Amuestra=Absorbancia del DPPH con muestra (A1 y A2) después de 30 min de reacción

El ensayo de poder antioxidante reductor del ion férrico (FRAP)

El reactivo FRAP se generó preparando las soluciones madre de 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ) (10mM, 25ml), cloruro de hierro (III) hexahidratado (20mM, 25ml) y un buffer de acetatos (0.3M, pH 3.6, aforado a 100ml). Se tomaron 2.5 mL de cada jugo (A1 y A2) y se diluyeron con 7.5 mL de agua destilada. La actividad antioxidante se midió de la siguiente manera: se colocaron 3 µL de cada jugo, blanco (agua) o solución estándar con 270 µL de la solución FRAP y 27 µL de agua destilada. Esta reacción se incubó por 30 min a 37°C. Se construyó una curva de calibración por medio de Trolox de 0 a 1 mg/mL en metanol. Las muestras se leyeron a 593 nm en el lector de Elisa Thermo Fisher Scientific. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de Trolox por mL de muestra (mgECAT/mL muestra).

RESULTADOS

Análisis fisicoquímicos

Las mediciones de pH, °Brix y Acidez se realizaron durante la vida de anaquel de A1 y A2, es decir cada 0,7,4,21 y 28 días. Los valores de pH no mostraron cambios significativos (figura 1A). Se encontraron que los °Brix de A1 fue mayor que A2 (figura 1B) y la acidez medida fue mayor en A1 que en A2, aunque solo se encontró diferencias en los días 21 y 28 (figura 1C).

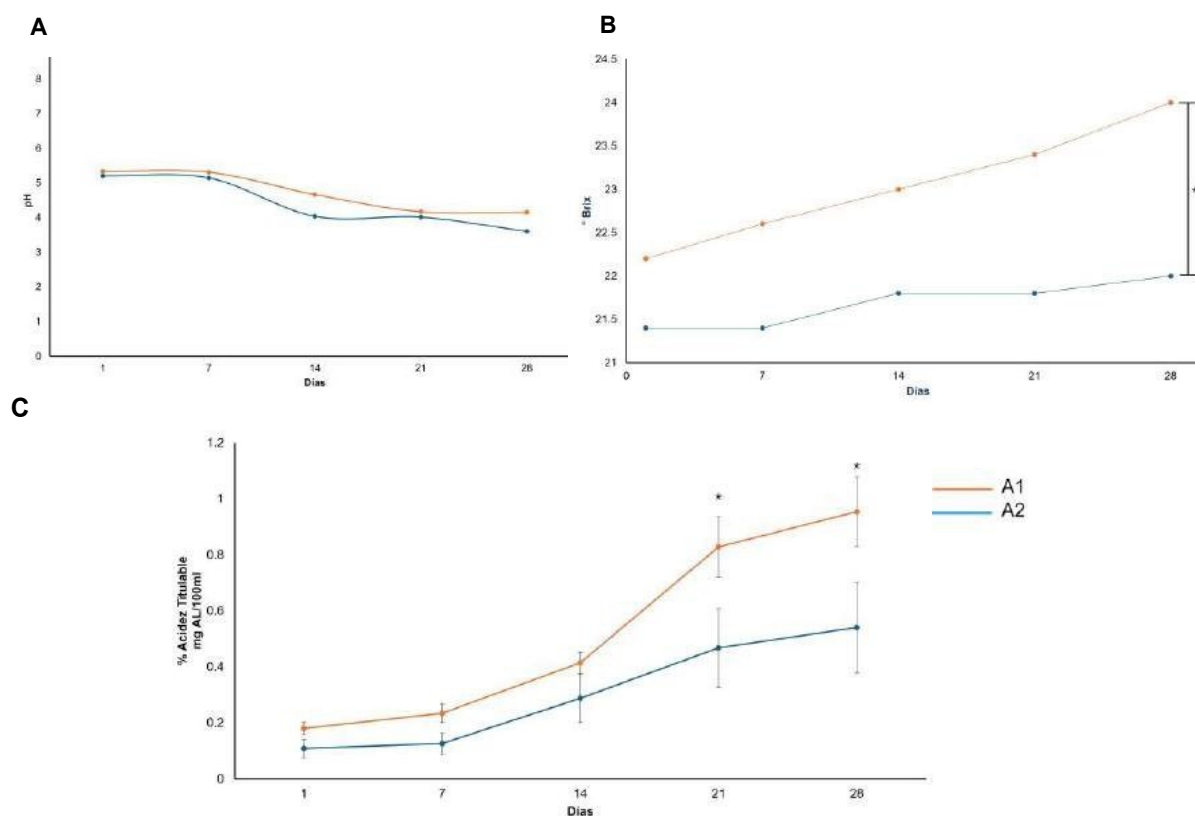


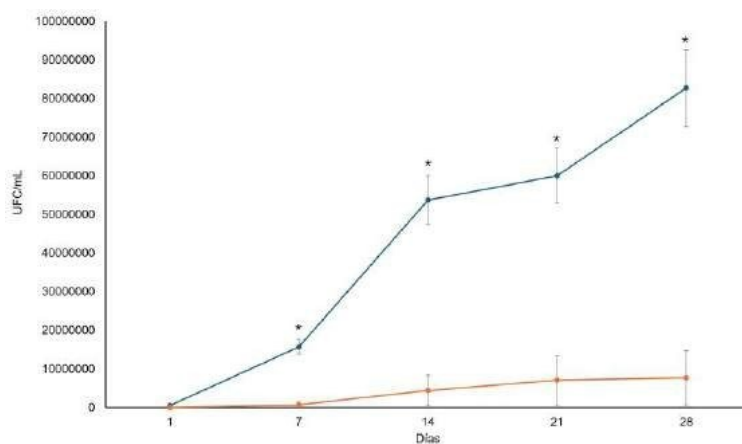
Figura 1.- Características fisicoquímicas. A) valores de pH, B) valores de °Brix y C) valores de acidez. * $p < 0.03$

Inactivación microbiana

El conteo de bacterias aerobias en placa se realizó conforme a la norma NOM-092 SSA1-1994, usando medios estándar. Se observó que A2 presentó mayor UFC que en A1 (figura 2A) a lo largo del periodo de vida de anaquel, sin embargo, son valores que están dentro de los límites permitidos por la Norma.

El conteo de mohos y levaduras también se realizó conforme a la Norma NOM-111-SSA1-1994, usando Agar Papa Dextrosa (PDA). Se observó que hay mayor crecimiento de UFC en A1 que en A2 (figura 2B), sin embargo, son valores que están dentro de los límites permitidos por la Norma.

A



B

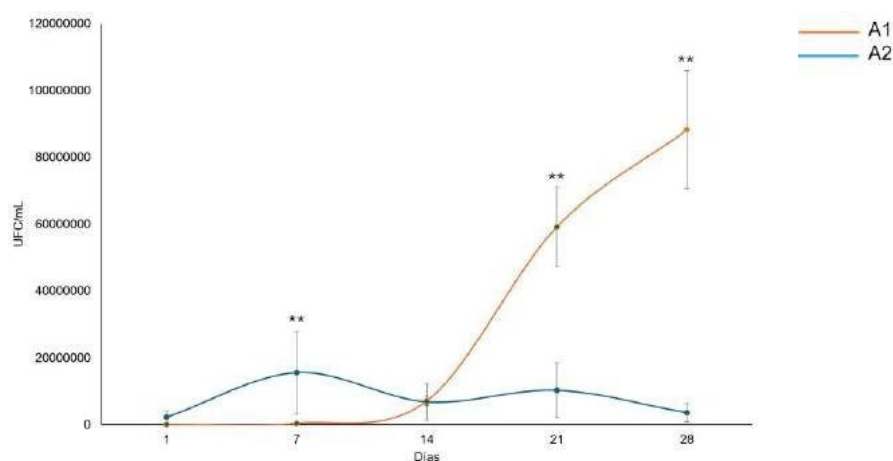


Figura 2.- Características fisicoquímicas. A) bacterias aerobias, B) mohos y levaduras. * $p < 0.03$; ** $p < 0.04$

Calidad nutricional y funcional Análisis cualitativo de compuestos funcionales

Este análisis se realizó utilizando reactivos que provocaban cambios en la coloración de A1 y A2. Se observaron compuestos funcionales importantes tales como fenoles y flavonoides. Los resultados semuestran en la tabla 1.

Tabla 1. Análisis cualitativo de compuestos funcionales

	A1	A2
Flavonoides	+	+
Antocianinas	+	+
Alcaloides	-	-
Fenoles totales	+	+
Cumarinas	+	+
Quinonas	+	+
Grupos funcionales	+	+
Anillos aromáticos	+	+
Azúcares reductores	+	+
Compuestos grasos	+	+
Proteínas	-	-
Contenido: Presencia (+); Ausencia (-)		

Análisis cuantitativo de compuestos

funcionalesFenoles totales

La concentración de fenoles totales se realizó por medio de la gráfica presentada en la figura 3A, cuya ecuación de la curva resultante fue: $y = 13.04x + 0.1124$, donde $R^2 = 0.9941$. Se observó que durante la vida de anaquel A1 contenía mayor concentración de fenoles totales en comparación con A2 (figura 3B).

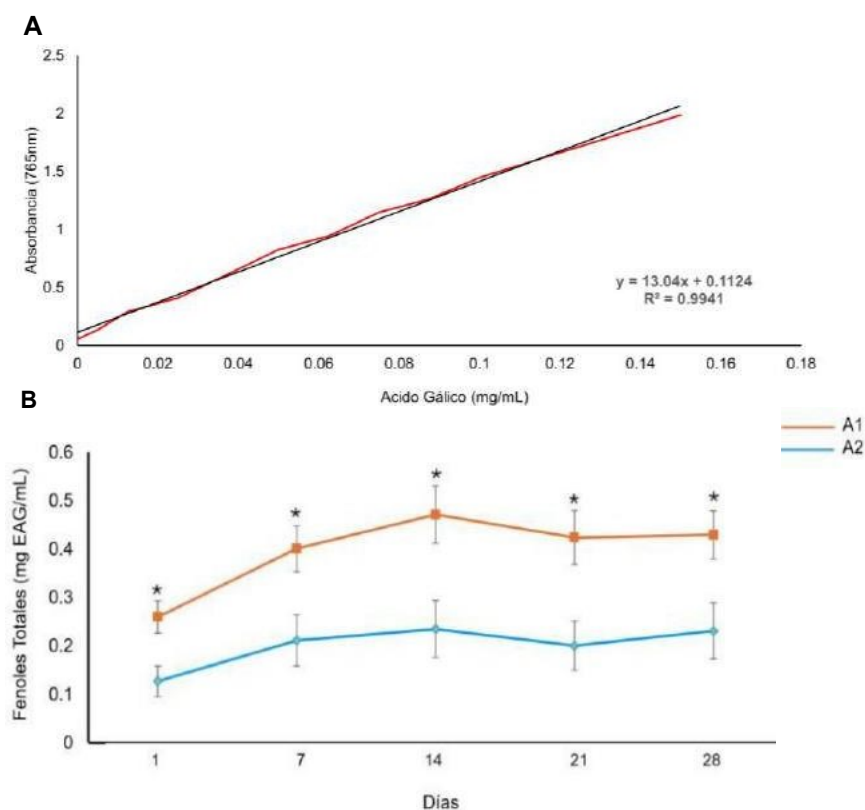


Figura 3. Fenoles totales. A) Curva estándar de ácido gálico. B) Concentración de fenoles totales.
*p <0.03

Flavonoides totales

La determinación de flavonoides totales se realizó por medio de la gráfica presentada en la figura 4A, la curva resultante fue: $y = 0.1602x + 0.0436$, donde $R^2 = 0.9906$. Este análisis no presentó diferencias entre el contenido de estos compuestos.

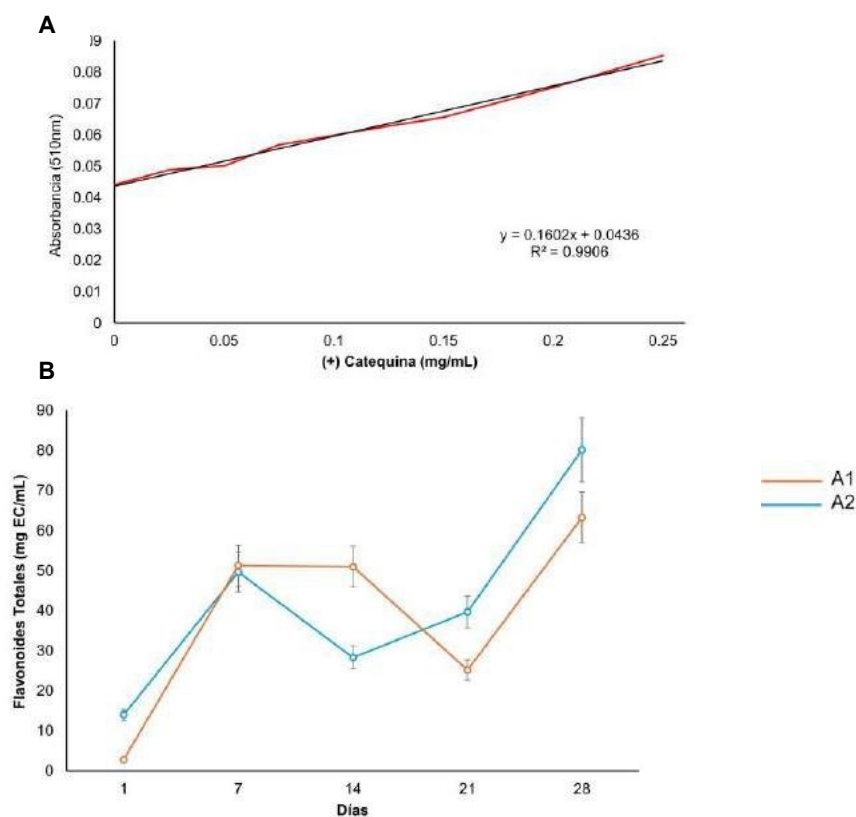


Figura 4. Fenoles totales. A) Curva estándar de catequina. B) Concentración de flavonoides totales.

Actividad antioxidante

El porcentaje de atrapamiento del radical 2,2-difenol-1 picrilhidrazilo (DPPH) mostrado por A1 y A2, fue muy similar y no mostraron diferencias significativas (figura 5).

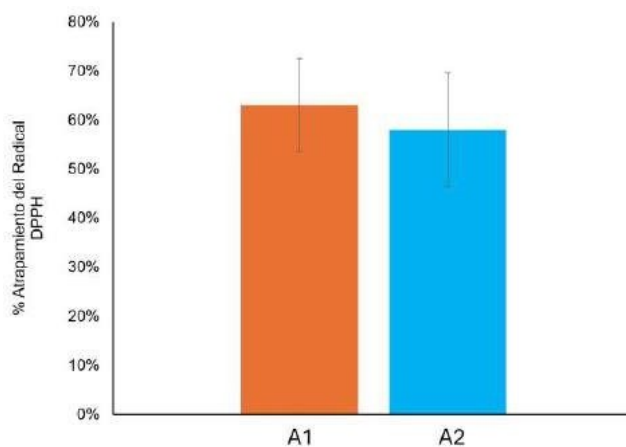
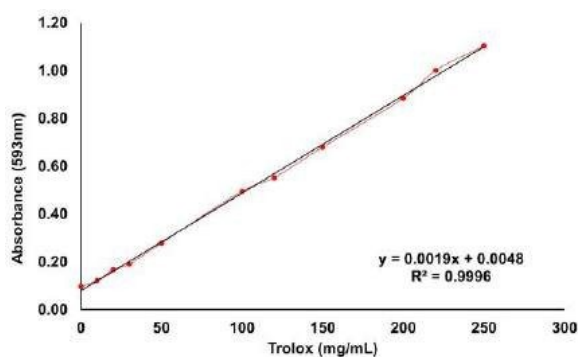


Figura 5. Porcentaje de atrapamiento del radical DPPH.

La actividad antioxidante medida por medio de FRAP, se realizó por medio de la gráfica mostrada en la figura 6A, cuya ecuación de la curva resultante fue: $y = 0.0019x + 0.0048$, donde $R^2 = 0.996$. Se demostró que A1 y A2 no presentaron diferencias significativas (figura 6B).

A



B

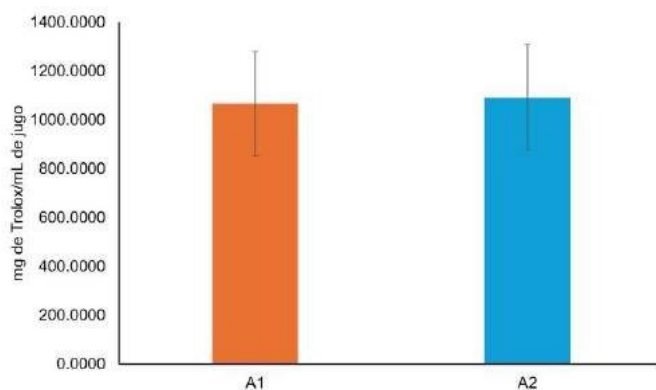


Figura 6. Actividad antioxidante FRAP. A) Curva estándar Trolox. B) Concentración actividad antioxidante.

CONCLUSIONES

El jugo de caña en general presentó muchos aportes nutricionales a la salud humana dado que se comprobó que hay presencia de compuestos funcionales como fenoles, flavonoides, quinonas, cumarinas y que gracias a ellos este jugo presenta actividad antioxidante. El tratamiento de esterilización por medio de tecnología de luz Ultravioleta del jugo de caña con jengibre mostró una reducción en la carga microbiológica, manteniendo las propiedades nutricionales y funcionales, además, tuvo una vida de anaquel prolongada en comparación con el jugo de caña con jengibre sintratar.

Agradecimientos: IDEA Gto. Por el financiamiento del proyecto (**IDEAGTO/CONV/088/2023**) y Empresa **CERO MAYA S.A.P.I de C.V.** por la vinculación y facilidades para el uso del equipo Extractor 4.0, para la obtención del jugo de caña y Jengibre.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] G. James, "Sugarcane Second Edition," 2004, Accessed: Mar. 25, 2024. [Online]. Available: www.blackwellpublishing.com
- [2] A. Singh, U. R. Lal, H. M. Mukhtar, P. S. Singh, G. Shah, and R. K. Dhawan, "Phytochemical profile of sugarcane and its potential health aspects," *Pharmacogn Rev*, vol. 9, no. 17, p. 45, Jan. 2015, doi: 10.4103/0973-7847.156340.
- [3] N. Aguilar-Rivera, D. A. Rodríguez L., V. Enríquez R., A. Castillo M., and A. Herrera S., "The Mexican Sugarcane Industry: Overview, Constraints, Current Status and Long-Term Trends," *Sugar Tech*, vol. 14, no. 3, pp. 207–222, Sep. 2012, doi: 10.1007/S12355-012-0151-3.
- [4] "Indian Medicinal Plants," *Indian Medicinal Plants*, 2007, doi: 10.1007/978-0-387-70638-2.
- [5] A. Cáceres, L. M. Girón, S. R. Alvarado, and M. F. Torres, "Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases," *J Ethnopharmacol*, vol. 20, no. 3, pp. 223–237, 1987, doi: 10.1016/0378-8741(87)90050-X.
- [6] N. Balasundram, K. Sundram, and S. Samman, "Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses," *Food Chem*, vol. 99, no. 1, pp. 191–203, Jan. 2006, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2005.07.042.
- [7] K. Takara, K. Ushijima, K. Wada, H. Iwasaki, and M. Yamashita, "Phenolic compounds from sugarcane molasses possessing antibacterial activity against cariogenic bacteria," *J Oleo Sci*, vol. 56, no. 11, pp. 611–614, 2007, doi: 10.5650/JOS.56.611.
- [8] B. Payet, A. S. C. Sing, and J. Smadja, "Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: determination of their polyphenolic and volatile constituents," *J Agric Food Chem*, vol. 53, no. 26, pp. 10074–10079, Dec. 2005, doi: 10.1021/JF0517703.
- [9] M. M. S. Cabral *et al.*, "Influence of phenolic compounds on color formation at different stages of the VHP sugar manufacturing process," *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, Dec. 2022, doi: 10.1038/S41598-022-24455-4.
- [10] B. Payet, A. S. C. Sing, and J. Smadja, "Comparison of the concentrations of phenolic constituents in cane sugar manufacturing products with their antioxidant activities," *J Agric Food Chem*, vol. 54, no. 19, pp. 7270–7276, Sep. 2006, doi: 10.1021/JF060808O.
- [11] S. Perales, R. Barberá, M. J. Lagarda, and R. Farré, "Antioxidant capacity of infant fruit beverages: influence of storage and in vitro gastrointestinal digestion," *Nutr Hosp*, vol. 23, no. 6, pp. 547–553, 2008.
- [12] V. P. Valdramidis, P. J. Cullen, B. K. Tiwari, and C. P. O'Donnell, "Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing," *J Food Eng*, vol. 96, no. 3, pp. 449–454, Feb. 2010, doi:

- 10.1016/J.JFOODENG.2009.08.025.
- [13] X. Ji, R. Li, H. Yang, P. Qi, Y. Xiao, and M. Qian, "Occurrence of patulin in various fruit products and dietary exposure assessment for consumers in China," *Food Control*, vol. 78, pp. 100–107, Aug. 2017, doi: 10.1016/J.FOODCONT.2017.02.044.
- [14] F. Tang, W. Xia, Y. Xu, Q. Jiang, W. Zhang, and L. Zhang, "Effect of thermal sterilization on the selected quality attributes of sweet and sour carp," *Int J Food Prop*, vol. 17, no. 8, pp. 1828–1840, Sep. 2014, doi: 10.1080/10942912.2012.745130.
- [15] G. Martínez and F. López, "Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu Apellidos, nombre".
- [16] O. A. D. A. K. O. L. E. Samson, "Total phenolic and total flavonoid contents, antioxidant capacity and biological contaminants in medicinal herbs," *Journal of the University of*, Jan. 2011, Accessed: Mar. 25, 2024. [Online]. Available: https://www.academia.edu/2269340/Total_phenolic_and_total_flavonoid_contents_antioxidant_capacity_and_biological_contaminants_in_medicinal_herbs
- [17] A. Martinez, G. A. Valencia, N. Jimenez, M. Mesa, and E. Galeano, "Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacología y Fitoquímica," *Man. Prácticas Lab. Farm. y Fitoquímica*, pp. 1–96, 2008.

BIOPLÁSTICO FÚNGICO: UNA ALTERNATIVA ECOLÓGICA AL CUERO CONVENCIONAL

Diana Stephanie Ocegueda Vega ¹, Nelly Flores Ramírez ¹, Salomón Ramiro Vásquez García ²,
Marco Antonio Vilchis García ².

¹Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera, ²Facultad de Ingeniería Química., Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

nelly.flores@umich.mx

RESUMEN

En la actualidad, la obtención de cuero convencional por el uso de recursos de origen animal y polímeros sintéticos, plantea preocupaciones éticas y ambientales, que resultan de su alto consumo de agua, contaminación por desechos tóxicos y requerimientos energéticos. Una perspectiva favorable, es aprovechar el desarrollo biológico y natural de los hongos, para producir bioplásticos ecológicos y biodegradables con características similares al cuero, de forma que se obtenga una textura, color y resistencia al agua similares. En esta investigación, se obtuvieron bioplásticos a partir del desarrollo controlado in vitro de *Pleurotus ostreatus* durante un periodo de 9 días. Posteriormente, estos bioplásticos fueron recubiertos con diferentes concentraciones de glicerol como plastificante y sometidos a un proceso de secado. Los resultados revelaron un crecimiento micelial acelerado durante el período de incubación, con una textura suave y algodonosa. El análisis morfológico mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) mostró el desarrollo de células hifales esqueléticas que conforman el micelio de *P. ostreatus*. Además, el análisis estructural químico mediante espectroscopia infrarroja de Fourier (FTIR) evidenció la presencia de biomoléculas constituyentes de la pared celular de las hifas, como glicoproteínas, lípidos y polisacáridos. Finalmente, el análisis del ángulo de contacto reveló que el plastificante influye significativamente en el comportamiento hidrofóbico-hidrofílico de los bioplásticos, lo que sugiere la posibilidad de ajustar sus propiedades según las necesidades específicas de uso. Considerando lo anterior, el desarrollo de bioplásticos fúngicos sustentables, se presenta como una alternativa viable para mitigar los impactos éticos y ambientales asociados con la producción de cuero convencional.

INTRODUCCIÓN

Después de la industria del petróleo, el sector textil se posiciona como el segundo más contaminante del medio ambiente y, en gran medida, uno de los menos reconocidos en cuanto a su impacto. Este sector, que incluye la producción de textiles, cuero y confecciones, es notablemente complejo debido a su extensa cadena de suministro, la cual abarca desde la obtención de materias primas y fabricación hasta el diseño, hasta el envío, uso y disposición final de las prendas [1]. En contraste, el cultivo de hongos comestibles ofrece una solución biotecnológica innovadora para el reciclaje de residuos orgánicos lignocelulósicos. Este proceso facilita la producción natural de bioplásticos sostenibles, aportando de manera considerable a la mitigación de la contaminación ambiental y promoviendo una economía más circular y respetuosa con el entorno [2].

Una de las alternativas más prometedoras en el contexto del uso de hongos comestibles de la categoría Fungí, incluye una gran diversidad de organismos, con aproximadamente 100.000 especies descritas, aunque se estima que existen alrededor de 1,5 millones de especies [3]. En particular, los hongos como el *Pleurotus ostreatus* se destacan por su capacidad de degradar eficientemente residuos lignocelulósicos agrícolas, agroindustriales y urbanos. El uso de este hongo se ha difundido globalmente debido a su abundancia y su capacidad para degradar celulosa y hemicelulosa presentes en dichos residuos [4].

La mayoría de los hongos, incluido el hongo *Pleurotus ostreatus*, presentan una estructura ramificada llamada micelio [5]. El término "micelio" se refiere a las estructuras filamentosas de los hongos, capaces de crecer y entrelazarse para formar redes tridimensionales. Este proceso, conocido como micelización, ha sido aprovechado por diseñadores y científicos para crear bioplásticos innovadores [6]. El proceso de producción de bioplásticos a partir de micelio comienza con la inoculación del

hongo en el sustrato seleccionado, como se ha demostrado en estudios previos. Así, a lo largo de varios días o semanas, el micelio crece y coloniza el sustrato, formando una matriz densa y cohesiva, proceso conocido como micelización. Una vez que el micelio ha colonizado completamente el sustrato, el material resultante se cosecha, se somete a un proceso de secado para alcanzar la textura y resistencia deseadas. Este proceso de micelización permite la creación de un bioplástico que es no solo resistente y flexible, sino también completamente biodegradable al final de su vida útil [7]. En la Figura 1 se representa el desarrollo de bioplásticos fúngicos, basada en los hallazgos de esta investigación y representada fotográficamente.

El bioplástico producido mediante micelio ha demostrado ser altamente atractivo y adaptable, debido a que puede utilizarse en una variedad de aplicaciones, desde la moda hasta el diseño de interiores y productos industriales. Su versatilidad y sostenibilidad han atraído la atención de diseñadores y fabricantes que buscan alternativas más ecológicas en sus productos [8].

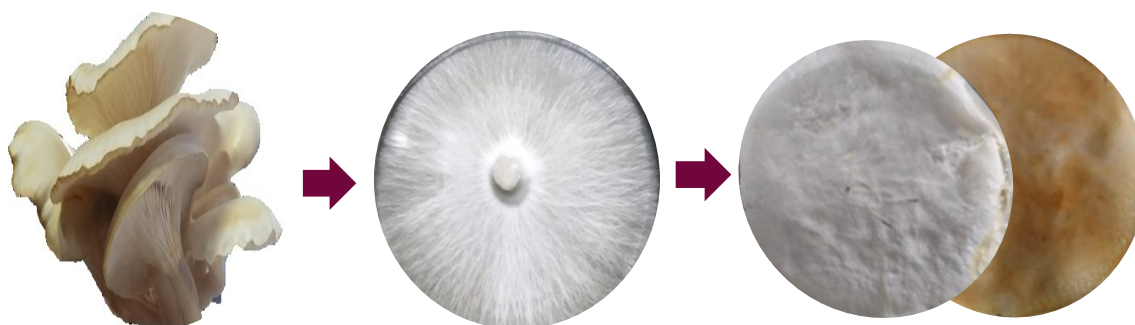


Figura 1. Desarrollo de bioplásticos fúngicos según esta investigación.

La investigación de bioplásticos de micelio ha sido impulsada por la urgencia de enfrentar los desafíos ambientales de la industria de cuero convencional, que incluyen desde la contaminación del agua hasta la emisión de gases de efecto invernadero. En contraste, los bioplásticos de micelio ofrecen un ciclo de vida más sostenible, descomponiéndose naturalmente al final de su uso sin dejar residuos tóxicos. Además de su eco-eficiencia, los bioplásticos son versátiles y se adaptan a diversas aplicaciones, desde prendas de vestir hasta productos para el hogar y la construcción. Su capacidad para ser moldeados en diferentes formas y texturas abre nuevas posibilidades creativas para diseñadores y fabricantes. Gracias a sus propiedades naturales, estos bioplásticos son ideales para sustituir el cuero convencional derivado de animales o del petróleo, ofreciendo una alternativa ecológica y eficiente.

TEORÍA

Cuero convencional

El cuero convencional es ampliamente utilizado en diversas industrias, incluyendo la moda, la tapicería y la automotriz, debido a su durabilidad y apariencia estética. Sin embargo, la producción de cuero tiene un impacto ambiental significativo, que ha llevado a un creciente interés en encontrar alternativas más sostenibles. La producción de cuero comienza con el sacrificio de animales, principalmente ganado bovino, cuya piel se somete a un proceso de curtido para evitar su descomposición y mejorar sus propiedades mecánicas. Este proceso involucra varias etapas, incluyendo la obtención de la piel, curtido y el acabado como se muestra en la Figura 2 [9].



Figura 2. Proceso de elaboración de piel por el método tradicional.

La producción de cuero convencional plantea varios problemas ambientales y éticos significativos. Entre estos problemas se destacan los siguientes:

Consumo de recursos: La producción de cuero implica un uso considerable de recursos, siendo el agua y la energía dos de los principales. Se estima que, para producir un kilogramo de cuero, se requieren aproximadamente 17,000 litros de agua, lo que representa una carga significativa para los suministros hídricos locales y regionales [10].

Contaminación del agua: El proceso de curtido, especialmente cuando se utilizan sales de cromo, genera efluentes altamente contaminantes. Estos efluentes contienen metales pesados y otras sustancias tóxicas que pueden contaminar los cuerpos de agua y afectar la vida acuática [11].

Emisiones de gases de efecto invernadero: La ganadería, que proporciona la materia prima para el cuero, es una fuente significativa de emisiones de metano, un potente gas de efecto invernadero. Además, los procesos industriales involucrados en la producción de cuero contribuyen a las emisiones de dióxido de carbono [12].

Desechos sólidos: La producción de cuero también genera una cantidad considerable de desechos sólidos, incluyendo recortes de piel y productos químicos residuales. Estos desechos, si no se gestionan adecuadamente, pueden contribuir a la contaminación del suelo y del agua [13].

Problemas éticos y de bienestar animal: Además de los problemas ambientales, la producción de cuero convencional plantea serias preocupaciones éticas y de bienestar animal. El sacrificio de animales para obtener sus pieles es un tema controversial, especialmente en un contexto donde las alternativas sostenibles y sintéticas están cada vez más disponibles [14].

Biomateriales utilizados para reemplazar el cuero convencional

La búsqueda de alternativas sostenibles al cuero convencional ha llevado al desarrollo de varios biomateriales innovadores. Estos materiales no solo buscan reducir el impacto ambiental asociado con la producción de cuero, sino también abordar preocupaciones éticas relacionadas con el bienestar animal. A continuación, se presentan algunos de los biomateriales más prometedores que se utilizan para reemplazar el cuero convencional:

Piñatex. Este es un innovador biomaterial derivado de las fibras de hojas de piña, representa una solución sostenible y biodegradable que surge a partir de los subproductos agrícolas. Este material ofrece una alternativa prometedora ética y ecológica al cuero tradicional. Las fibras se procesan

mediante un tratamiento industrial para producir un tejido que puede ser utilizado en la fabricación de ropa, accesorios y tapicería, Piñatex ha sido adoptado por diversas marcas de moda, mostrando su viabilidad comercial y su aceptación en el mercado [15].

Muskin. Es un cuero vegetal derivado del hongo *Phellinus ellipsoideus*. Este material es biodegradable y no tóxico, lo que lo convierte en una opción respetuosa con el medio ambiente. Muskin se produce mediante un proceso de crecimiento controlado del hongo, seguido de un tratamiento que mejora sus propiedades mecánicas y estéticas [16].

Cuero de Manzana. Este cuero se produce a partir de los residuos de la industria del jugo de manzana. Estos residuos, que de otro modo serían desechados, se convierten en un material duradero y flexible mediante procesos industriales. El cuero de manzana es biodegradable y presenta una alternativa innovadora y sostenible al cuero convencional [17].

Cuero de cactus. También conocido como Desserto, se fabrica a partir de las hojas del cactus nopal. Este material es sostenible, ya que los cactus requieren poca agua para crecer y pueden cultivarse en áreas áridas. Desserto es biodegradable y presenta propiedades similares al cuero convencional en términos de durabilidad y flexibilidad [18].

Bioplástico fúngico: Este es producido a partir del micelio de hongos, es una de las alternativas más interesantes al cuero tradicional. El micelio es la estructura vegetativa de los hongos y puede cultivarse en sustratos orgánicos para formar una matriz densa y resistente. Este material puede ser tratado para imitar la textura y durabilidad del cuero convencional [19].

Los biomateriales presentan una alternativa viable y sostenible al cuero convencional, ofreciendo beneficios ambientales significativos y abordando preocupaciones éticas. La adopción de estos materiales en diversas industrias es un paso importante hacia una producción más responsable y ecológica.

Definición y tipos de Bioplásticos

Los bioplásticos, son definidos como materiales plásticos obtenidos a partir de recursos biológicos renovables o de residuos biológicos, han ganado reconocimiento por su potencial para mitigar los impactos ambientales asociados con los plásticos convencionales. Estos materiales pueden ser diseñados para biodegradarse más rápidamente que sus contrapartes no biodegradables. La diversidad de los bioplásticos se refleja en su composición, que incluye variantes como los basados en almidón, ácido poliláctico (PLA) y polímeros derivados de microorganismos como bacterias y hongos [20]. Estos bioplásticos representan una categoría diversa y en constante evolución, con aplicaciones que abarcan desde envases hasta materiales de construcción.

Hongos y producción de bioplásticos

Los hongos, particularmente el micelio, se han destacado como una fuente viable para la producción de bioplásticos. El micelio es la estructura vegetativa de los hongos, es una red fibrosa de filamentos microscópicos interconectados y dinámicos bien desarrollado constituido por la extensión apical y fusión de hifas, filamentos tubulares y alargados que muestran una considerable plasticidad y versatilidad de desarrollo (Fig. 3). El micelio es el esqueleto del organismo ya que se encarga de conectar y trasladar rápidamente agua, azúcares y minerales formando un sistema cerrado en respuesta a estímulos o cambios en la composición del medio externo [21]. El micelio posee una capacidad única para descomponer material orgánico y formar redes tridimensionales robustas. Cuando se cultiva sobre sustratos adecuados, el micelio puede producir bioplásticos con propiedades mecánicas comparables al cuero animal [22].



Figura 3. Micelio fúngico, desarrollado en residuos lignocelulósicos. Fuente de elaboración propia

El hongo *Pleurotus ostreatus*, comúnmente conocido como seta ostra, es un hongo basidiomiceto perteneciente a la familia Pleurotaceae, y es uno de los más utilizados con la finalidad de producir bioplásticos, para remplazar el cuero convencional. Este hongo es apreciado tanto por sus propiedades culinarias como por sus aplicaciones medicinales y medioambientales. El cuerpo fructífero de *P. ostreatus* se caracteriza por su forma de ostra, de ahí su nombre, con un sombrero que puede variar en color desde blanco hasta gris oscuro o marrón, dependiendo de la cepa y las condiciones de crecimiento [23] (Fig. 4). El diámetro del sombrero puede alcanzar hasta 25 cm, y su superficie es lisa y a menudo brillante. Las láminas del hongo son blancas a crema y decurrentes, es decir, descienden por el pie, que es generalmente corto y lateralmente unido al sustrato [24].



Figura 4. Hongo *Pleurotus ostreatus* desarrollado en residuos agroforestales. Fuente de elaboración propia.

Desde el punto de vista ecológico, *P. ostreatus* es un saprófito, lo que significa que se alimenta de materia orgánica en descomposición, particularmente madera y residuos agrícolas. Es capaz de descomponer la lignina y la celulosa, componentes principales de la madera, lo que lo convierte en un agente importante en la biodegradación y el reciclaje de nutrientes en los ecosistemas forestales. Además, *P. ostreatus* tiene aplicaciones biotecnológicas, como la biorremediación, debido a su capacidad para degradar contaminantes ambientales, incluidos algunos compuestos tóxicos y metales pesados [25].

Sustratos utilizados en la elaboración de bioplásticos fúngicos con fines de remplazar el cuero convencional

La selección del sustrato es crucial para la calidad del bioplástico. Los sustratos utilizados para este propósito suelen ser residuos lignocelulósicos agroindustriales y urbanos, los cuales no solo proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento del micelio, sino que también se benefician de un proceso de reciclaje que reduce significativamente el desperdicio. A continuación, se detallan algunos de estos sustratos alternativos:

Paja de trigo y bagazo de caña de azúcar. Los residuos agrícolas como la paja de trigo y el bagazo de caña de azúcar son abundantes y ricos en celulosa y hemicelulosa, componentes que el micelio puede degradar eficientemente. Estos sustratos no solo son económicos, sino que también representan una solución a la gestión de residuos, convirtiendo materiales de residuos en productos de alto valor [26].

Aserrín. Este subproducto de la industria maderera, es otro sustrato efectivo debido a su alta disponibilidad y contenido lignocelulósico. La combinación de estos residuos con el micelio no solo genera bioplástico sostenible, sino que también contribuye a la economía circular, un modelo económico que busca minimizar el desperdicio y maximizar el uso de los recursos [27].

Residuos de papa. Dentro de los residuos, se incluye la cáscaras y pulpa de papa, ya que presentan una abundancia en almidón, un componente que puede servir como fuente de carbono para el crecimiento del micelio. Estos residuos no solo son abundantes y económicos, sino que también permiten el reciclaje de desechos de la industria alimentaria, reduciendo así el impacto ambiental de los residuos orgánicos [28].

Cáscaras de cacao. Estas cáscaras son un subproducto de la industria chocolatera, contienen una mezcla de compuestos orgánicos que pueden ser degradados por el micelio. Este sustrato ha mostrado ser efectivo en la producción de bioplástico debido a su contenido en celulosa y otros polisacáridos que facilitan el crecimiento fúngico [29].

Residuos de café. Dentro de estos residuos se incluyen los posos y la pulpa de café, los cuales son sustratos abundantes en nutrientes que pueden ser utilizados para cultivar micelio. Además de ser abundantes y generalmente desechados, estos residuos aportan un contenido nutricional balanceado que favorece el desarrollo del micelio [30].

Cáscaras de frutas. Cáscaras como las de manzanas, naranjas y plátanos presentan una alta cantidad de celulosa, hemicelulosa y otros nutrientes que pueden soportar el crecimiento del micelio. Estas cáscaras son residuos comunes en la industria alimentaria y representan una fuente renovable y sostenible para la producción de bioplástico [31].

Residuos de cerveza. Los subproductos de la industria cervecera, como el bagazo de malta y la levadura residual, contienen altos niveles de proteínas y carbohidratos, proporcionando un ambiente nutritivo para el micelio. Estos residuos son abundantes y pueden ser reciclados de manera efectiva en el proceso de producción de bioplástico [32].

Residuos de maíz. Los subproductos del maíz, que comprenden hojas, tallos y mazorcas, contienen una abundante cantidad de lignocelulosa y han demostrado ser sustratos idóneos para el crecimiento del micelio. Estos residuos agrícolas son ampliamente accesibles y proporcionan una vía para transformar los desechos agrícolas en materiales de valor [33].

El uso de estos sustratos no solo promueve la sostenibilidad al reciclar residuos orgánicos, sino que también mejora las propiedades del bioplástico al ofrecer una variedad de nutrientes que pueden influir positivamente en la textura y resistencia del producto final. La exploración continua de nuevos sustratos y combinaciones optimizadas sigue siendo un área activa de investigación en la producción de bioplástico a partir de micelio.

Características del bioplástico fúngico

El bioplástico fúngico presenta una serie de características que lo posicionan como una alternativa prometedora al cuero convencional. Entre estas, a continuación, se presentan las más destacadas

Sostenibilidad: El proceso de producción de este material se basa en el uso de recursos renovables, lo que contribuye a la reducción de la dependencia de fuentes no renovables y a una menor emisión de gases de efecto invernadero. En comparación con métodos convencionales, su fabricación genera una huella de carbono considerablemente más baja [34].

Biodegradabilidad: En contraste con el cuero tradicional y los plásticos derivados del petróleo, el bioplástico fúngico presenta la ventaja de ser biodegradable, lo que contribuye significativamente a la reducción de la acumulación de residuos en el medio ambiente, así al llegar al final de su ciclo de vida útil, se descompone de manera natural, minimizando su impacto ambiental y promoviendo la sostenibilidad [35].

Propiedades físicas: Este innovador material puede ser tratado de diversas maneras para lograr diferentes texturas, flexibilidad y resistencia, lo que permite imitar de manera efectiva las características del cuero convencional [36]. Esta capacidad de adaptación lo hace ideal para una amplia gama de aplicaciones, desde la moda hasta la industria automotriz, ofreciendo una alternativa sostenible y funcional a los materiales tradicionales.

Beneficios Ecológicos: Mientras que la producción convencional de cuero involucra procesos químicos intensivos, un alto consumo de agua y la emisión considerable de gases de efecto invernadero, el bioplástico fúngico presenta una alternativa más sostenible. Además, este material requiere menos recursos y genera menos contaminantes durante su producción. Además, su uso contribuye a la disminución de los residuos orgánicos al emplear subproductos agrícolas como sustrato, cerrando así el ciclo de los recursos naturales [37]. Estos beneficios ecológicos son de gran importancia en un contexto global, donde se busca reducir la dependencia de materiales no renovables y minimizar los impactos ambientales.

Desafíos y limitaciones

Aunque el bioplástico fúngico presenta una serie de ventajas significativas, su implementación no está exenta de desafíos y limitaciones que requieren consideración.

Escalabilidad: La producción a gran escala aún presenta dificultades técnicas y económicas. La infraestructura y las técnicas necesarias para producir grandes cantidades de bioplástico fúngico todavía están en desarrollo [38].

Consistencia del producto: Garantizar la uniformidad en la calidad y las propiedades del material es crucial para su aceptación en el mercado. Variaciones en las condiciones de crecimiento del micelio pueden resultar en diferencias significativas en el producto final [39].

Costos: Actualmente, los costos de producción son más altos en comparación con el cuero convencional, lo que puede limitar su competitividad. Sin embargo, se espera que los costos disminuyan a medida que la tecnología avance y aumente la producción a escala [40].

Estudios y aplicaciones

Diversas empresas y proyectos de investigación han comenzado a explorar y desarrollar aplicaciones comerciales para el bioplástico fúngico. Por ejemplo, la empresa MycoWorks ha creado un material denominado "Reishi" que imita al cuero y ya se utiliza en la fabricación de artículos de moda [41]. Este tipo de iniciativas demuestra el potencial del bioplástico fúngico en la industria textil y de productos de consumo. Otros proyectos están investigando su uso en productos de embalaje y construcción, expandiendo aún más su alcance.

PARTE EXPERIMENTAL

Material inicial

Estos materiales y compuestos que constituyen los componentes básicos empleados en el proceso de producción de bioplástico fúngico, son el hongo *Pleurotus ostreatus*, el gar de papa-dextrosa que se utiliza como medio de cultivo para el crecimiento del micelio de *Pleurotus ostreatus* y el glicerol (glicerina o propanotriol), que actúa como agente plastificante en la formulación del bioplástico.

Elaboración de bioplástico fúngico a partir del *Pleurotus ostreatus*

Para la elaboración del bioplástico (Fig. 5), se prepararon en condiciones asépticas 15 cajas Petri, cada una con el medio de cultivo de agar papa-dextrosa (PDA). En el centro de cada caja se colocó una porción de micelio de *P. ostreatus* de 0.5 cm y se incubaron durante 9 días, a 28 °C y en completa oscuridad. Los bioplásticos obtenidos fueron recubiertos con una capa gruesa de plastificante de glicerol con diferentes porcentajes: M1 sin recubrir, M2 con 30% de glicerol, M3 con un 50%, M4 con un 70%, y M5 con un 100%. Por último, las muestras se secaron a 40 °C hasta alcanzar un peso constante.

Análisis morfológico

Para analizar la morfología de las hifas en los bioplásticos obtenidos, se empleó microscopio electrónico de barrido (MEB). El equipo empleado fue un JSM-7600F de JEOL Ltd. Este microscopio está equipado con un espectrómetro de rayos X de dispersión de energía (EDS), el cual permite realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de los elementos presentes en las muestras, proporcionando información sobre la presencia de elementos clave como carbono, oxígeno y sodio.

Análisis estructural por FTIR-ATR

Se llevó a cabo el análisis de la estructura química de los bioplásticos utilizando un espectrómetro infrarrojo Perkin Elmer Spectrum 400, equipado con un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Este análisis abarcó un rango de 4000 a 650 cm⁻¹.

Ángulo de contacto

Para analizar la mojabilidad superficial de los bioplásticos, se empleó un tensiómetro óptico para medir el ángulo de contacto. Se colocó una gota de agua ultrapura de 2,9 µl, por triplicado en cada una de las muestras, y se reportaron sus valores promedio. Para la medición se capturaron imágenes de la vista lateral de las gotas en los primeros 10 segundos y su ángulo de contacto fue medido utilizando el software AutoCAD 2020.

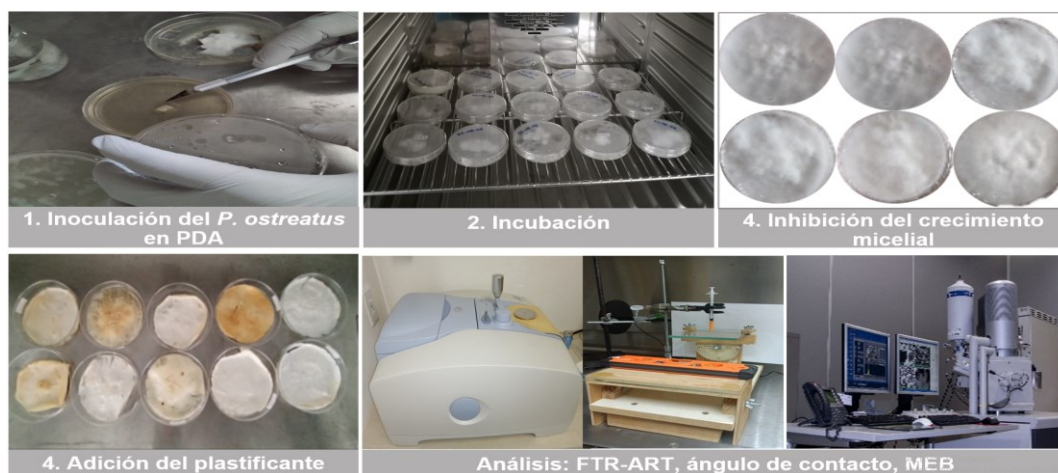


Figura 5. Obtención de un bioplástico fúngico a partir del *P. ostreatus* en agar papa /dextrosa.

RESULTADOS

Análisis visual de los bioplásticos obtenidos a partir del *Pleurotus ostreatus*

En la Figura 6, se muestran las fotografías de los bioplásticos obtenidos a partir del *Pleurotus ostreatus*. Todos ellos presentaron un color blanco y cierta rigidez al ser separados de la caja Petri.

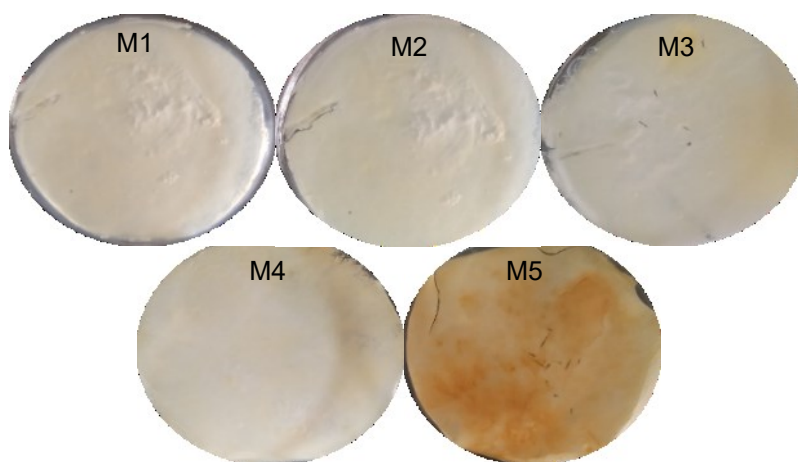


Figura 6. Bioplásticos fúngicos de *P. ostreatus* recubiertos en diversos porcentajes de plastificante de glicerol M1: 0%, M2: 30%, M3: 50%, M4: 70%, M5: 100%.

Morfología

En la Figura 7 se presentan las microestructuras de los bioplásticos obtenidos mediante microscopia electrónica de barrido (MEB). Estas imágenes revelan el desarrollo de hifas entrelazadas y sin orden específico, formando ramificaciones.

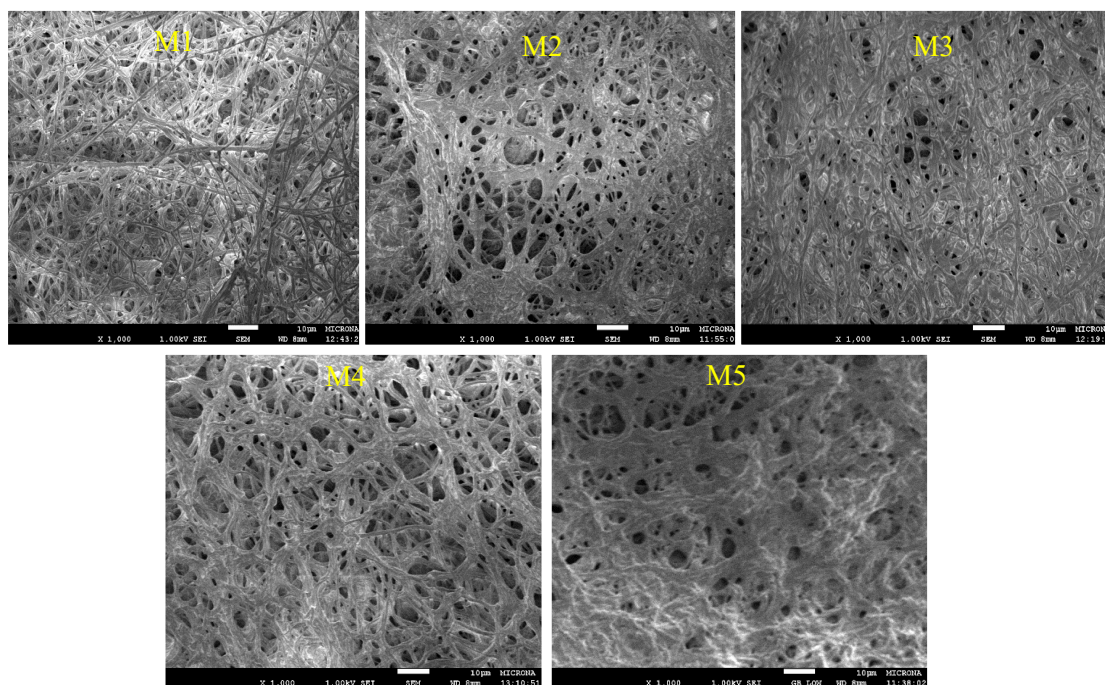


Figura 7. Micrografías por SEM de las muestras de bioplásticos de *P. ostreatus* recubiertos en diversos porcentajes de plastificante de glicerol M1: 0%, M2: 30%, M3: 50%, M4: 70%, M5: 100%.

El crecimiento de estas estructuras celulares está notablemente influenciado por el sustrato y las condiciones de incubación. Los cinco tratamientos analizados mostraron diferentes morfologías. En el tratamiento M1, se observó el desarrollo de células hifales tubulares entrelazadas y continuas, lo que resultó en la formación de un bioplástico amorfo. Por otro lado, en los tratamientos que incluyeron plastificante, como son los tratamientos de M2 a M5, las hifas se observan más compactas, reduciendo la porosidad al aumentar el porcentaje de glicerol. Este efecto se debe a que el glicerol penetra en los poros, proporcionando mayor lubricación y flexibilidad a los bioplásticos.

El glicerol, actúa como un plastificante, mejorando la flexibilidad y suavidad del material de micelio. La adición de glicerol incrementa la elasticidad de las fibras de micelio, reduciendo su fragilidad y resultando en una textura más suave y manejable. De acuerdo con Jones et al. [42], la incorporación de plastificantes como el glicerol en biopolímeros disminuye su rigidez. Además, el glicerol influye en la retención de humedad, o que evita que el material se vuelva rígido y frágil, una propiedad crucial en aplicaciones textiles como el cuero, donde se requiere elasticidad y suavidad [43].

Se realizó el análisis por espectroscopia de dispersión de energía (EDS) con la finalidad de determinar la composición de los elementos en los bioplásticos. En la Figura 8, se señala la presencia del carbono (C), oxígeno (O) y del sodio (Na). Los resultados indicaron que la composición es mayoritariamente de macroelementos como el carbono y el oxígeno. En menor proporción, se identificó la presencia del sodio.

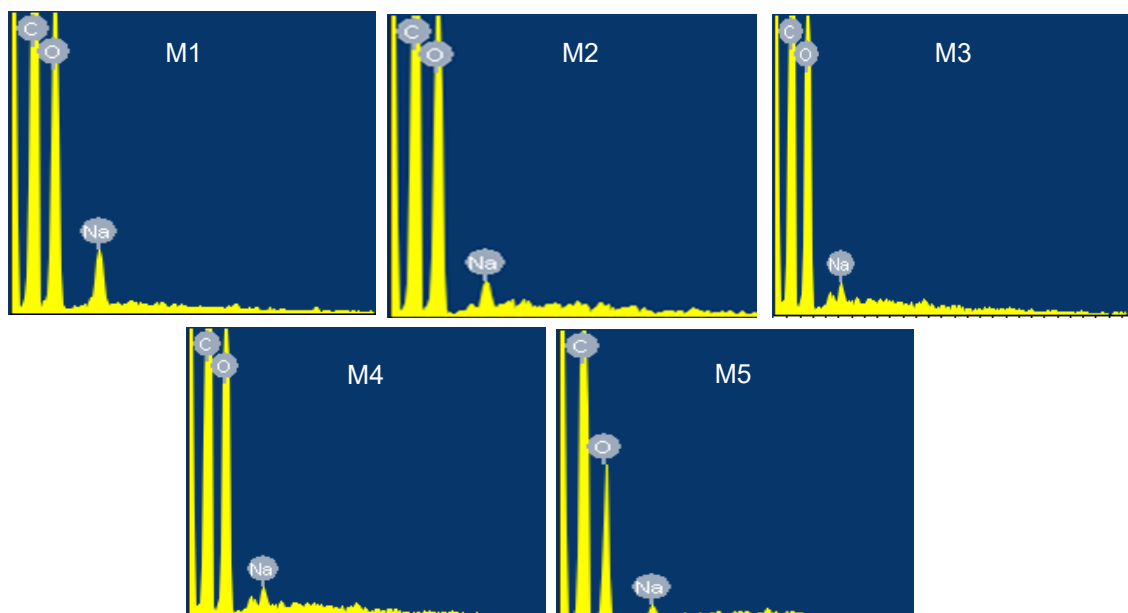


Figura 8. Gráficos de EDS de las muestras de bioplásticos de *P. ostreatus* recubiertos en diversos porcentajes de plastificante de glicerol M1: 0%, M2: 30%, M3: 50%, M4: 70%, M5: 100%.

Análisis estructural por FTIR

En los espectros de FTIR-ATR (Fig. 9) se observan las señales de los grupos funcionales del micelio fúngico. La señal en la región de $2934 - 2935 \text{ cm}^{-1}$ se debe a la vibración de tensión del C-H presente en ácidos grasos y lípidos del micelio. En 1634 cm^{-1} se identifican enlaces C=O de la amida I, mientras que en 1372 cm^{-1} se observan señales asociadas a los grupos metilo. Las señales en el rango de $1200-900 \text{ cm}^{-1}$ se asignan a las vibraciones de C-O, C-C y C-O-C de los polisacáridos. Es notable el pico en 1040 cm^{-1} , correspondiente a la vibración de tensión del enlace glucosídico y del anillo de pirano de la celulosa. Se destaca la intensidad en la vibración asignada a los grupos OH- que forman parte de los componentes del micelio como los polisacáridos, así como también al plastificante, se evidencia que a mayor cantidad de glicerol la señal indicada se intensifica.

El glicerol, reconocido como un humectante, desempeña un papel crucial en la modificación de las propiedades de las membranas de quitosano. Además de atraer y retener la humedad [45], introduce nuevas bandas de absorción en el espectro FTIR debido a sus propios grupos funcionales. Las bandas características del glicerol, como las correspondientes a los grupos hidroxilo (OH) alrededor de $3200-3500 \text{ cm}^{-1}$ y las bandas de C-O y CH_2 en las regiones de $1200-650 \text{ cm}^{-1}$ y $2800-3000 \text{ cm}^{-1}$ respectivamente, aparecen en el espectro. Estas bandas se superponen a las bandas del micelio, modificando el perfil espectral general [44].

Se reconoce que el glicerol puede interactuar con las macromoléculas del micelio a través de enlaces de hidrógeno. En este sentido, las bandas asociadas con los grupos hidroxilo, aminas, y carbonilos en el micelio pueden experimentar desplazamientos en la frecuencia o cambios en la intensidad debido a las interacciones con el glicerol. Este fenómeno sugiere una influencia significativa del glicerol en las propiedades estructurales y químicas de las membranas de quitosano, lo que podría afectar sus características de biodegradabilidad y su desempeño en diversos entornos acuáticos.

Estudios como los de Yang et al. [45] han demostrado que las interacciones entre el glicerol y los componentes químicos del micelio pueden causar desplazamientos en las bandas de absorción de los grupos funcionales, reflejando cambios en la estructura química y las interacciones moleculares.

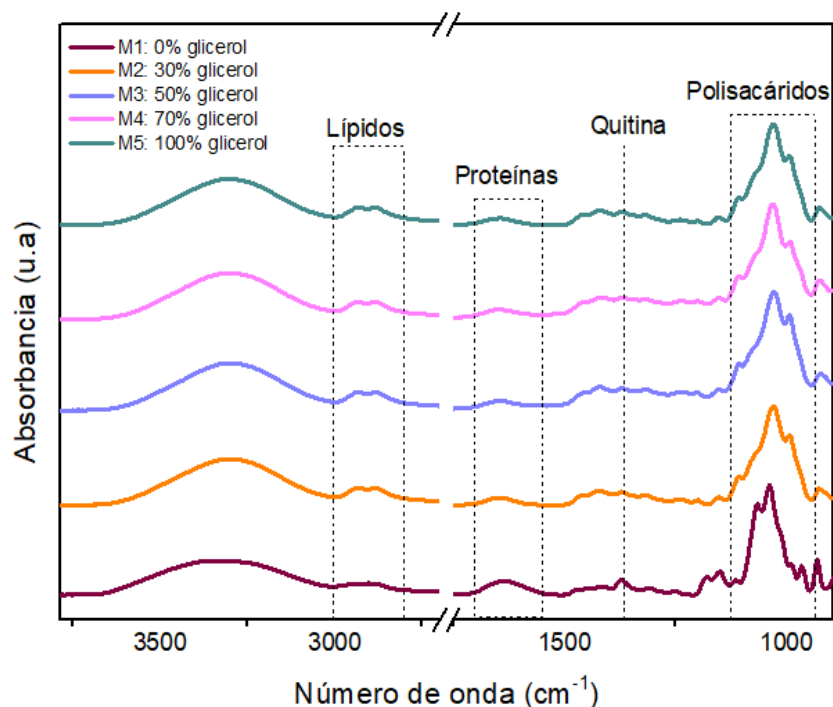


Figura 9. FTIR de las muestras de bioplásticos de *P. ostreatus* recubiertos en diversos porcentajes de glicerol (0...100%) en medio nutritivo PDA.

La Tabla 1, muestra un análisis detallado de las frecuencias FTIR de los grupos funcionales presentes en las muestras de bioplásticos de micelio fúngico con diferentes porcentajes de glicerol. En la tabla, se presentan tanto las tensiones teóricas como las tensiones experimentales de las vibraciones observadas para varios grupos funcionales en muestras con 0%, 30%, 50%, 70% y 100% de glicerol.

Tabla 1. Frecuencias FTIR de los grupos funcionales presentes en las muestras de bioplásticos

Grupo funcional	Tensiones teóricas (cm ⁻¹)	Tipo de vibración	Tensiones experimentales (cm ⁻¹)				
			Control	30% Glicerol	50% Glicerol	70% Glicerol	100% Glicerol
OH (Hidroxilo)	3500-3200	v	3354	3259	3306	3309	3296
CH ₂ (Metileno)	3000-2800	v _{as,s}	2933	2934	2934	2933	2935
C=O (Carbonilo)	1800-1500	v	1745	1745	1740	1736	1744
C=O (Amida I)	1640-1550	v	1634	1644	1634	1644	1647
NH (Amida II)	1650-1550	d	-	1533	1546	1551	1546
O-CH ₃ (Metoxi)	1463-1425	d _{as}	1417	1422	1422	1418	1421
CH ₃ (Metilo)	1310-1295	d _s	1372	1372	1372	1372	1372
C-O (Enlace glucosídico)	1200-650	v	1039	1032	1032	1032	1031

Ángulo de contacto

El ángulo de contacto mide cómo un líquido se extiende sobre una superficie sólida, reflejando las características hidrofílicas o hidrofóbicas del material. Los valores de ángulo de contacto se muestran en la Figura 10 donde se puede apreciar que el bioplástico de *P. ostreatus* sin plastificante es un material que cuenta con una superficie hidrofóbica, dado a que presenta un $\theta > 90^\circ$ esto debido a que el micelio es una red ramificada con componentes hidrofóbicos como la quitina e hidrofobinas.

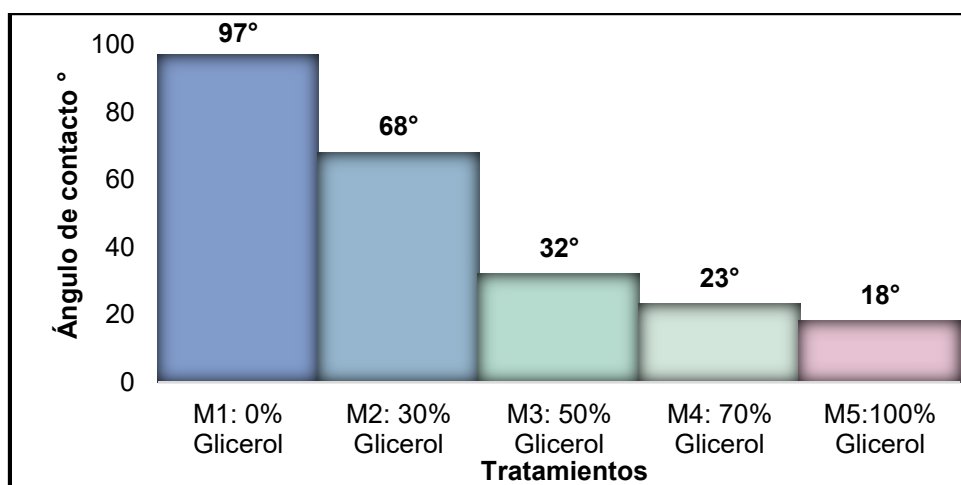


Figura 10. Análisis de ángulo de contacto en bioplásticos de micelio de *P. ostreatus*, recubiertos con diversos porcentajes de plastificante y desarrollados en agar de papa y dextrosa. Los resultados son expresados en promedio (n=3).

El glicerol influye significativamente en el análisis del ángulo de contacto en materiales de micelio. Los tratamientos M2-M5 presentan carácter hidrofílico que aumenta progresivamente con mayores concentraciones de glicerol. La adición de glicerol aumenta la hidrofiliidad del material de micelio, permitiendo una mejor dispersión de las gotas de agua. Esto se debe a que el glicerol reduce la tensión superficial del agua, favoreciendo su esparcimiento sobre la superficie. Según Khan et al. [46], reporta que la adición de glicerol en bioplásticos fúngicos disminuye el ángulo de contacto, indicando una mejora en la humectabilidad del material. Asimismo, la investigación de Zhang et al. [47] confirma que la incorporación de glicerol mejora las propiedades superficiales de los bioplásticos fúngicos, resultando en ángulos de contacto menores y una mejor humectabilidad. Este efecto es beneficioso para aplicaciones que requieren una mayor absorción de humedad y una óptima distribución de líquidos sobre el material.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, se concluye que los bioplásticos desarrollados a partir de *Pleurotus ostreatus* presentan características físicas y químicas que los hacen viables como materiales alternativos al cuero convencional. Los bioplásticos obtenidos muestran un color blanco y cierta rigidez inicial, con microestructuras formadas por hifas entrelazadas cuya morfología varía según el porcentaje de glicerol añadido. El glicerol actúa como plastificante, aumentando la flexibilidad y suavidad del material al reducir la porosidad y favorecer la lubricación de las fibras de micelio. Análisis mediante EDS y FTIR confirman la presencia de elementos como carbono, oxígeno y sodio, y detallan las interacciones entre el glicerol y los componentes del micelio, observándose cambios en las bandas de absorción debido a estas interacciones. Además, el glicerol mejora la hidrofiliidad del material, disminuyendo el ángulo de contacto y favoreciendo la dispersión de líquidos sobre la superficie, lo que resulta beneficioso para aplicaciones que requieren absorción de humedad. Estos hallazgos sugieren que los bioplásticos de *P. ostreatus*, con sus propiedades ajustables mediante la adición de glicerol, pueden ser una alternativa sostenible y adaptable para diversas aplicaciones en la industria textil y otros campos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brañez, "Innovaciones en la industria textil y su impacto ambiental", Revista de Ciencia y Tecnología Ambiental., Vol. 45, 2, 2018, pp. 123-135.
2. Beetz, M. Kustodia, "Bioplásticos fúngicos: Una alternativa sostenible para la industria del cuero", Journal of Sustainable Materials., Vol. 22, 6, 2004, pp. 567-578.
3. G. Montes, P. Rodríguez, L. Álvarez, "Diversidad y aplicaciones del reino Fungi en la biotecnología moderna", Microbiología Aplicada., Vol.18, 1, 2003, pp. 98-112.
4. N. García, R. Bermúdez, M. Serrano, "Formulaciones de sustratos en la producción de setas comestibles *Pleurotus*", Tecnología Química., Vol. 15, 3, 2011, pp. 15-22.
5. L. Garcés, M. Fernández, C. Ruiz, "Propiedades estructurales y mecánicas del micelio en aplicaciones textiles", Ingeniería de Materiales., Vol. 9, 3, 2003, pp. 189-200.
6. M. Jones, T. Bhat, "Mycelium-based materials: a versatile platform for the development of sustainable materials and their applications", Green Chemistry., Vol. 22, 20, 2020, pp. 6844-6871.
7. L. C. Hoffman, E. Wiklund, C. Mapiye, G.T. Stilwell, "Animal welfare and the production of meat and other animal products: A South African perspective", Food Security, Vol. 13, 2021, pp. 247-256.
8. K. Chapagain, A. Y. Hoekstra, H. H. Savenije, R. Gautam, "The water footprint of cotton consumption: An assessment of the impact of worldwide consumption of cotton products on the water resources in the cotton producing countries", Ecological Economics., Vol. 60, 1, 2006, pp. 186-203.
9. J. Kanagaraj, T. Senthilvelan, R.C. Panda, S. Kavitha, "Eco-friendly waste management strategies for greener environment towards sustainable development in leather industry: a comprehensive review", Journal of Cleaner Production., Vol.89, 2015, pp. 1-17.
10. H. Steinfeld, P. Gerber, T. Wassenaar, V. Castel, M. Rosales, C. Haan, "Livestock's long shadow: environmental issues and options", Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)., 2006, Retrieved from <http://www.fao.org/3/a0701e/a0701e00.htm>
11. J.R. Raju, B. Mandal, R. Sadiku, "Tannery solid waste to treat wastewater: an eco-friendly and sustainable strategy", Environmental Technology & Innovation., 18, 2020, pp. 100745.
12. L. C. Hoffman, E. Wiklund, C. Mapiye, G.T. Stilwell, "Animal welfare and the production of meat and other animal products: A South African perspective", Food Security, Vol. 13, 2021, pp. 247-256.
13. Anam, "What is Piñatex?" Ananas Anam. Retrieved from <https://www.ananas-anam.com/>, (2023).
14. Life Materials, "Muskin: Mushroom leather." Life Materials, 2023, Retrieved from <https://www.lifematerials.eu/>
15. FRUMAT, "Apple leather: Sustainable and innovative" FRUMAT, 2023, Retrieved from <https://www.frumatleather.com/>

16. Desserto. "Desserto: Cactus leather" Desserto, 2023, Retrieved from <https://desserto.com.mx/>
17. M. Jones, T. Bhat, "Mycelium-based materials: a versatile platform for the development of sustainable materials and their applications", *Green Chemistry.*, Vol. 22, 20, 2020, pp. 6844-6871.
18. European Bioplastics. "What are bioplastics?" European Bioplastics e.V., 2023, Retrieved from <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/>
19. M. Jones, (2020) "Impact of Glycerol as a Plasticizer on the Properties of Biopolymer Films", *Journal of Polymers and the Environment.*, Vol. 28, 4, 2020, pp. 1113-1123.
20. N. García, R. Bermúdez, M. Serrano, "Formulaciones de sustratos en la producción de setas comestibles *Pleurotus*", *Tecnología Química.*, Vol. 15, 3, 2011, pp. 15-22.
21. S. P. Wasser, "Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides", *Applied Microbiology and Biotechnology.*, Vol. 60, 3, 2002, pp. 258-274
22. S. Rajarathnam, Z. Bano, "Pleurotus mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value", post-harvest physiology, preservation, and role as human food, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, Vol. 28, 3, 2004, pp. 287-380.
23. S. T. Chang, P. G. Miles, "Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact", CRC Press., 2004
24. M. Brañez, "Contaminación de los ambientes acuáticos generados por la industria textil", *Universidad Nacional Federico Villarreal, Perú.*, Vol. 23, 26, 2018, pp. 129-143.
25. G. Montes, P. Rodríguez, L. Álvarez, "Diversidad y aplicaciones del reino Fungi en la biotecnología moderna", *Microbiología Aplicada.*, Vol. 18, 1, 2003, pp. 98-112.
26. Rodríguez, R. Gómez, "Utilización de residuos de papa en la producción de biomateriales a base de micelio", *Revista de Ciencias Agrícolas*, Vol. 30, 1, 2019, pp. 78-88.
27. L. Martínez, P. Díaz, "Aprovechamiento de residuos de cacao en la elaboración de biotextiles miceliales", *Innovación y Desarrollo Sustentable.*, Vol. 15, 3, 2020, pp. 201-215.
28. M. Sánchez, J. Herrera, "Posos de café como sustrato para la producción de biocuero", *Journal of Applied Mycology.*, 11, 2, 2018, pp. 145-158.
29. Vargas, D. López, "Cáscaras de frutas en la producción de materiales miceliales biodegradables". *EcoMateriales.*, 14, 4, 2021, pp. 355-368.
30. P. Ramírez, F. Ortega, "Subproductos de la industria cervecera como sustrato para cultivos miceliales", *Materiales Sostenibles*, Vol. 19, 5, 2000, pp. 420-433
31. Hernández, "Residuos de maíz en la producción de biopolímeros miceliales", *Ciencia y Tecnología de Materiales.*, Vol. 25, 2, 2017, pp. 98-109.
32. M. Haneef, L. Ceseracciu, C. Canale, I.S. Bayer, J. A. Heredia-Guerrero, A. Athanassiou, "Advanced materials from fungal mycelium: Fabrication and tuning of physical properties", *Scientific Reports*, Vol. 7, 2017, pp. 41292.
33. F. V. Appels, S. Camere, M. Montalti, E. Karana, K. M. Jansen, J. Dijksterhuis, P. Krijgheld, "Fabrication factors influencing mechanical, moisture- and water-related properties of mycelium-based composites", *Materials & Design.*, Vol. 161, 2019, pp. 64-71.
34. D.S. Bajwa, J. Shojaeiarani, S. G. Bajwa, G. A. Holt, "Durability and biodegradation characteristics of biocomposites from wood waste and agricultural by-products", *Resources, Conservation and Recycling.*, Vol. 162, 2020, pp. 105040.
35. L. R. Vining, D. Yang, "Economic analysis of large-scale fungal bioplastic production: Challenges and opportunities", *Industrial Biotechnology.*, Vol. 18, 3, 2022, pp. 153-162.
36. M. Jones, T. Bhat, "Mycelium-based materials: a versatile platform for the development of sustainable materials and their applications", *Green Chemistry.*, Vol. 22, 20, 2020, pp. 6844-6871.
37. MycoWorks, "Reishi: The Fine Mycelium™ leather", MycoWorks, 2023, Retrieved from <https://www.mycoworks.com/>
38. Smith, C. Williams, "The Role of Humectants in Biopolymer Film Formation", *Food Hydrocolloids.*, 89, 2019, pp. 235-243.
39. M. Jones, A. Mautner, S. Luenco, A. Bismarck, S. John, "Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review" *Materials & Design.*, Vol. 187, 2020, pp. 108397.

40. H. Patel, "Effect of Glycerol Concentration on Mycelium Growth and Morphology", *Applied Microbiology and Biotechnology.*, Vol.105, 2, 2021, pp. 739-750.
41. X. Zhang, "Surface Characterization of Mycelium-Based Biocomposites Treated with Glycerol", *Materials Science and Engineering.*, 116, 2020, pp. 111235.
42. M. Jones, T. Bhat, "Mycelium-based materials: a versatile platform for the development of sustainable materials and their applications", *Green Chemistry.*, Vol. 22, 20, 2020, pp. 6844-6871.
43. J. Yang, "Interactions between Glycerol and Biopolymers as Revealed by FTIR Spectroscopy", *Carbohydrate Polymers.*, 189, 2018, pp. 303-310.
44. M. Jones, A. Mautner, S. Luenco, A. Bismarck, S. John, "Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review" *Materials & Design.*, Vol.187, 2020, pp. 108397.
45. J. Yang, "Interactions between Glycerol and Biopolymers as Revealed by FTIR Spectroscopy", *Carbohydrate Polymers.*, 189, 2018, pp. 303-310.
46. Khan, "Influence of Glycerol on the Wetting Properties of Biopolymer Films", *Journal of Applied Polymer Science.*, Vol. 135, 10, 2018, pp. 46013.
47. X. Zhang, "Surface Characterization of Mycelium-Based Biocomposites Treated with Glycerol", *Materials Science and Engineering.*, 116, 2020, pp. 111235.

CONTENIDO PROTEICO EN HARINA DE LENTEJA VERDE (*LENS CULINARIS* M.) EXTRUÍDAEder Noé Nambo Santiago¹, José Herrera Camacho², Berenice Yahuaca Juárez³

¹Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas, ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, ³Laboratorio de Biotecnología M.C. Víctor Manuel Rodríguez Alcocer, Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tzintzuntzan 273 Col. Matamoros 58240, Morelia, Michoacán
1153287h@umich.mx

RESUMEN

La lenteja, dada su calidad nutricional puede transformarse a harina y aprovecharse como ingrediente alimentario. La lenteja es de alto valor nutricional, contiene proteínas, minerales, vitaminas, carbohidratos, fibra y compuestos bio-activos. Sin embargo, posee también compuestos anti-nutricios que dificultan la asimilación de proteínas y minerales. Existen diferentes formas a través de las cuales se pueden obtener harinas, entre ellas la cocción hidrotérmica por ebullición con la posterior deshidratación y molienda. Las condiciones de cocción pueden afectar la calidad nutrimental de la matriz alimentaria (MA). Otra forma es la extrusión, tecnología emergente que tiene la capacidad de modificar las propiedades de la MA, permitiendo diversificar el uso de los alimentos, tal es el caso de la obtención de harina de lenteja. Estudios demuestran que la extrusión disminuye o inhibe los compuestos anti-nutricios. No obstante, la extrusión puede alterar también las propiedades nutrimentales de la MA extruida. El efecto de la extrusión sobre las proteínas en harina de lenteja verde (HV) es de interés, ya que determinan la calidad nutricional de los subproductos de lenteja. Así, es importante determinar la influencia de las condiciones de extrusión sobre los componentes nutrimentales como las proteínas, permitiendo optimizar el proceso de obtención de harina con relación a su aporte proteico, siendo esto importante desde el punto de vista de salud pública. Expuesto lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de las condiciones de extrusión sobre el contenido proteico en HV. Se utilizó lenteja (*Lens culinaris* M.) verde. Fue molida en crudo, acondicionada (humedad 50%) y extruida a 90, 100, 110, 120 y 130 °C. Los extruidos se deshidrataron (70°C/12hrs) y molieron. La variable de respuesta fue el contenido de proteínas determinado por el método Osborne modificado. Los controles 1 y 2 fueron harina de lenteja cruda y cocida (94 °C por 15 min) respectivamente. Los resultados muestran un contenido proteico en el control 1 de 19.19%, este valor disminuye significativamente ($\alpha=0.05$) cuando la lenteja es llevada a cocción (Control 2) (14.68 %). Sin embargo, se observó que la extrusión a 90 °C en HV disminuye el contenido en proteínas (18.84%) con respecto al control 1 sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($\alpha=0.05$). Con respecto al control 2 el contenido de la HV extruida es mayor, indicando que la extrusión a 90°C preserva el contenido en proteínas en mayor grado que la cocción por ebullición. Por otra parte, al incrementar la temperatura de extrusión (100, 110, 120 y 130 °C) el porcentaje de proteína disminuye proporcionalmente de forma significativa (13.86, 12.95, 7.75 y 6.88 %). En conclusión, la extrusión de la harina de lenteja verde es una tecnología que puede utilizarse para mejorar la MA, preservando el contenido de proteínas cuando se utiliza una temperatura de extrusión de 90°C comparativamente a la cocción por ebullición.

INTRODUCCIÓN

En México, las lentejas suelen cocinarse y consumirse como guarnición o sopa. La cocción no solo mejora el sabor de la semilla, también mejora la biodisponibilidad y el valor nutricional de los componentes. La adquisición e ingesta de las lentejas ha disminuido en México, su principal y mayor consumo es en ocasiones tradicionales como la cuaresma y el año nuevo como símbolo de abundancia, fertilidad y riqueza (SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola., 2020). Posiblemente la disminución en su ingesta se deba a la falta de variantes en la preparación o procesamiento de las lentejas de acuerdo con el estilo de vida actual, lo que limita su consumo y aprovechamiento (Anuradha et al., 2017). Tomando en cuenta lo anterior, es importante buscar alternativas que permitan diversificar la manera en que se utiliza y consume la lenteja. Como alternativa destaca el desarrollo de nuevos productos

alimentarios que sean fáciles y rápidos de preparar, mayormente digeribles, nutritivos y atractivos para el consumidor. En este sentido una opción es obtener subproductos a partir de la lenteja que puedan ser utilizados como matriz alimentaria para la elaboración de otros alimentos. De esta forma no solamente se diversifica la forma de consumir a la lenteja, sino que además pueden aprovechar sus propiedades nutrimentales, fomentando la soberanía, sostenibilidad y seguridad alimentaria (JÁE, 2021).

La extrusión en alimentos es una tecnología emergente que permite procesar y producir una gran cantidad de alimentos con diferentes formas, texturas y sabores. Propicia la obtención de alimentos con mejoras nutricionales y funcionales en comparación con otros métodos tradicionales, ya que evita la degradación de los componentes, conservando los nutrientes y sabores del alimento (Oblitas, 2017). La extrusión además permite procesar y producir una gran cantidad de alimentos de diferentes formas, textura y sabor. Permite la obtención de alimentos con mejoras nutricionales y funcionales en comparación con otros métodos tradicionales, al evitar la degradación de los componentes, conservando así los nutrientes y sabores del alimento (Valencia y Montoya, 2021). La extrusión consiste en la aplicación de calor y presión durante un corto periodo de tiempo utilizando un "extrusor" o tornillo sinfín. El material para procesar se coloca en un tubo, donde se regula la temperatura mediante resistencias eléctricas. El tornillo helicoidal transporta el material que se deforma por la fricción. Al final, el material deformado sale por una boquilla o dado, que le da la forma deseada (Sánchez, 2014). Permite la inactivación de enzimas, microorganismos y sustancias indeseables que sean poco resistentes al calor, lo que beneficia el alimento. Estas sustancias pueden propiciar el deterioro de los alimentos, hacerlos menos estables en el almacenamiento o reducir su valor nutricional. Además, la extrusión también ayuda a eliminar compuestos anti-nutricios presentes en la lenteja, como inhibidores de proteasas y amilasa, oligosacáridos y taninos (Montoya, 2023).

Las proteínas de las legumbres son consideradas de buena calidad. Sin embargo, son limitadas en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) y ricos en lisina, por lo que se complementan con los cereales, los cuales son ricos metionina y cisteína, pero pobres en lisina (Arqueroz, 2023). Las proteínas de las legumbres son el nutriente de mayor interés, están constituidas por 70 % de globulinas, 10-20 % albúmina, 10-15 % glutelina y el resto de prolamina. Contrariamente a los cereales, en los que abundan prolaminas y glutelinas como la glutenina, proteína presente en el trigo que junto con la gliadina forman el gluten (Flores et al., 2016).

El gluten es una proteína compleja presente en los cereales como, trigo, cebada, centeno y Avena. Sin, embargo, los seres humanos no poseen la enzima necesaria para su digestión total, logrando hidrolizarse hasta prolaminas, las cuales conservan características ontogenéticas. De esta manera, la intolerancia al gluten es una afección autoinmune debido al consumo de la proteína del trigo (gluten) y prolaminas en personas con genes susceptibles (Arqueroz, 2023).

Por otro lado, el contenido de proteína en lenteja está directamente relacionado con la variedad de la cual se trate. En cuanto a la lenteja verde y roja, existe una ligera diferencia en el contenido de proteína debido a la presencia de cascarilla en la variedad verde ya que, la proteína no se distribuye por igual en las diferentes partes de la lenteja, la mayor concentración de proteína está en los cotiledones con un 90 %, seguido del embrión con un 5 % y finalmente la cascarilla con alrededor de un 4 % (Vicente, 2017).

PARTE EXPERIMENTAL

Objetivo: Evaluar el efecto de las condiciones de extrusión sobre el contenido proteico en harina de lenteja verde.

Material de estudio: Semillas de lenteja (*Lens culinaris* M.) verde, marca Verde Valle®. Adquirida en un mercado local y llevada al Laboratorio de Biotecnología "M.C. Víctor Manuel Rodríguez Alcocer" de la Facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH hasta su uso.

Harina de lenteja cruda (Control 1): A partir de la lenteja cruda, se realizó una reducción del tamaño de partícula a 0.25 mm en un molino eléctrico Goldelwall®. La harina obtenida se colocó en bolsas selladas al vacío hasta su análisis.

Harina de lenteja cocida (Control 2): La lenteja cruda se llevó a una cocción hidrotérmica tradicional a 94°C durante 15 minutos en una proporción 2:1 (agua:lenteja). Al término, el agua de cocción se eliminó por decantación, posteriormente la lenteja se deshidrató a 70°C por 12 horas en un deshidratador marca Hamilton Beach®. Por último, se redujo el tamaño de partícula a 0.25 mm en un molino eléctrico Goldelwall®. La harina obtenida se colocó en bolsas selladas al vacío hasta su análisis.

Harina de lenteja extruida: La semilla de lenteja en estado crudo se pulverizó a un tamaño de partícula de 1.3 mm en un molino eléctrico Goldelwall®, posteriormente se acondicionó a 50 % de humedad con agua purificada. Para la extrusión del pulverizado acondicionado, se utilizó un extrusor de tornillo simple, patente MX/a/200/016262, desarrollado en CICATA-IPN unidad Querétaro. Se manejaron dos zonas de calentamiento a una misma temperatura de 90, 100, 110, 120 y 130 °C, la primera zona con la finalidad de precalentar la matriz alimentaria para posteriormente alcanzar con mayor facilidad la temperatura establecida en la segunda zona de calentamiento. Se utilizó un dado con apertura de 5 mm y una velocidad de rotación del tornillo de 15 rpm. Las muestras extruidas se atemperaron por 10 minutos y se deshidrataron a 70 °C/12 horas, posteriormente se pulverizaron a un tamaño de partícula de 1.3 mm en un molino eléctrico Goldelwall®, y se almacenaron en bolsas selladas al vacío hasta su análisis.

Extracción y cuantificación proteica: para realizar la extracción y cuantificación de proteínas en las harinas de lenteja extruidas y las harinas control se siguió el método descrito por Osborne, modificado por Castillo (2012). Se tomaron 2 g de la harina de lenteja desgrasada y se disolvieron en 20 ml de agua destilada, se agitó por 2 horas / 4 °C, posteriormente las proteínas insolubles se removieron de la solución mediante centrifugación y se recuperó el sobrenadante. El precipitado se resuspendió en NaCl al 10 % (pH 7), se agitó por 2 horas / 4 °C y se centrifugó a 3500 rpm / 30 min recuperando el sobrenadante. Siguiendo los pasos descritos anteriormente se empleó una solución de NaOH 0.1 M. Por último, con el sobrenadante recuperado en cada una de las extracciones se ajustó el pH entre 4.2-4.5 con HCl (0.1 M) y se dejó reposar por 12 hrs a 4°C. Finalmente, se centrifugó a 3500 rpm / 20 min y se eliminó el sobrenadante, el precipitado se llevó a la estufa a 40 °C / 24 hrs y se pesó para determinar el porcentaje de proteína extraída utilizando la siguiente formula:

$$\% \text{ proteína extraída} = \frac{(P1 - P2)}{m} (100)$$

Donde:

P1: peso inicial del papel filtro (constante).

P2: peso final del papel filtro (constante).

m: peso de la muestra.

Diseño y análisis estadístico. Lo anterior se sustentó con base en un diseño completamente al azar con 3 repeticiones, los datos fueron analizados con el paquete estadístico JMP11 y comparados mediante un análisis de varianza de una vía, las medias fueron comparadas con una prueba de Tukey con un nivel de significancia $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en la extracción proteica en harina de lenteja verde cruda (Control 1), cocida por ebullición (Control 2) y extruida a diferentes temperaturas. La harina de lenteja verde en estado crudo (Control 1) tiene un contenido proteico de 19.19 %, este porcentaje disminuye significativamente a 14.68 % cuando la harina de lenteja procede de la semilla llevada a cocción por ebullición (Control 2) representando una pérdida de 4.5 %.

Tabla 1. Contenido de proteína en harina de lenteja verde extruida a diferentes temperaturas.

Temperatura de extrusión (°C)	Extracción de Proteína (%)
Control 1	19.19 ± 0.01a
Control 2	14.68 ± 0.10b
90	18.84 ± 0.49a
100	13.86 ± 0.41b
110	12.95 ± 1.57b
120	7.75 ± 0.50c
130	6.88 ± 0.49c

Medias con letras distintas son estadísticamente diferentes entre sí según la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). $\pm$ = desviación estándar, en base seca. Control 1: lenteja cruda y control 2: lenteja cocida por ebullición.

En referencia a la extrusión, la harina de lenteja extruida a 90 °C presentó un porcentaje de proteína de 18.84 %, que aun cuando numéricamente es menor que el Control 1, no se hubo una diferencia estadísticamente significativa ($\alpha=0.05$). Cabe resaltar, que con respecto al control 2 la cocción tradicional tiene un mayor efecto en las proteínas que la extrusión a 90 °C. Así mismo, es posible observar que conforme se incrementa la temperatura de extrusión hay una disminución proporcional en el contenido de proteínas en la harina de lenteja verde extruida.

La extrusión a 100 y 110 °C disminuye significativamente el contenido de proteínas (13.86 % y 12.95 %) con respecto al Control 1 y la harina de lenteja verde extruida a 90 °C, sin embargo, no presenta diferencia significativa con el Control 2. En el caso de la lenteja extruida a 120 y 130 °C el contenido de proteínas entre ambas temperaturas fue igual estadísticamente (7.75 % y 6.88 %), no obstante, presenta diferencia significativa con ambos controles y las otras temperaturas de extrusión, obteniéndose con estas condiciones de extrusión los valores más bajos de proteínas.

La lenteja al ser extruida a 90 °C presenta un mayor contenido de proteína en comparación al reportado por Flores et al., (2016) en lenteja y haba cruda (10.6 % y 13.0 %). Por otro lado, Gómez et al (2020) reportaron un contenido de proteína inferior en harina de trigo y maíz (10.70 y 8.0 %) extruidas a una temperatura de 130 °C y 35 rpm. Así mismo, Vega et al (2023) encontraron un contenido de proteína similar en harina de lenteja extruida (20.0 %) e inferior en harina de arroz extruida (7.20 %).

La diferencia en el contenido de proteína entre un alimento cocido por ebullición y uno extruido puede variar por diversos factores, incluyendo el tipo de alimento, las condiciones en el proceso de extrusión y ebullición (Díaz et al., 2018). Por otro lado, la diferencia presentada en el contenido de proteína en harina de lenteja cocida por ebullición y extrusión a 90 °C puede estar relacionado con la lixiviación de proteínas en el agua de cocción. La disminución presentada en el contenido de proteína a una temperatura de extrusión de 130 °C en comparación a 90 °C se debe al incremento de la temperatura ya que, de acuerdo con (Bala et al., 2022) la mayor parte de las proteínas experimentan una desnaturalización entre los 50 y 60 °C. Derivado de la desnaturalización, el contenido de proteínas en una matriz alimentaria puede disminuir.

CONCLUSIONES

Considerando los resultados obtenidos se concluye que, el proceso de extrusión en la harina de lenteja, variedad verde, es una tecnología que puede utilizarse para mejorar la matriz alimentaria, nutricional y tecno-funcionalmente, preservando el contenido de proteínas cuando se utiliza una temperatura de extrusión de 90°C comparativamente a la cocción por ebullición tradicional.

BIBLIOGRAFÍA

- Arqueroz, S. (15 de Marzo de 2023). *Universidad de Valladolid*. Obtenido de Desarrollo de un snack extrusionado de harina de lenteja y maíz dirigido a la población con intolerancia al gluten: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/42513/TFG-M-N2044.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Anuradha, R., Pradhuman, Y., Lakshmi, K., Mishra, K., Aditya, J., & Pattanayak, A. (2017). Effect of dehulling, germination and cooking on nutrients, anti-nutrients, fatty acid composition and antioxidant properties in lentil (*Lens culinaris*). *Food Sci Technol* 54(4), 909–920. doi:DOI 10.1007/s13197-016-2351-4
- Arqueroz, S. (15 de Marzo de 2023). *Universidad de Valladolid*. Obtenido de Desarrollo de un snack extrusionado de harina de lenteja y maíz dirigido a la población con intolerancia al gluten: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/42513/TFG-M-N2044.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bala, S., Kinabo, J., & Uebersa, M. (2022). *Legume Science*, 5(1), 3-14. doi:<https://doi.org/10.1002/leg3.156>
- Barrera, J. M. (2021). EVALUACIÓN DE GRADOS BRIX COMO HERRAMIENTA PARA DETERMINAR EL PUNTO ÓPTIMO DE COSECHA CON DOS APLICACIONES DE K EN TOMATE. *Universidad tecnica de Ambato*, 13-15.
- Becerra-Tomás, N. P.-S. (2019). Legume consumption and cardiometabolic health. *Advances in Nutrition*, 10(Supplement_4), S437-S450.
- Chel, L., Corzo, L., & Betancur, D. (2003). Estructura y propiedades funcionales de proteínas de leguminosas. *Revista de la Universidad Autónoma de Yucatán*, 37-39.
- Díaz, R., Silverio, C., Edison, O., & Criollo, J. (17 de Julio de 2018). Pruebas de cocción de pastas alimenticias elaboradas con harina de trigo - almidón de banano. *Revista Científica Cumbres*, 4(1), 63-73. doi:<https://doi.org/10.48190/cumbres.v4n1a6>
- Flores, V., Chuck, C., De la Rosa, M., Orona, J., Rodríguez, W., & Salinas, A. (2016). Centro de Investigación y Desarrollo de Proteínas (CIDPRO). 1(2), 68-72 . Obtenido de <http://www.fcb.uaol.mx/IDCyTA/files/volume1/2/1/13.pdf>
- Gómez, M., Bravo-Núñez, Á., & Paesani, C. (Octubre de 2020). Effect of extrusion of whole-grain maize flour on the characteristics of gluten-free cookies. *Food Science and Technology*, 132. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109931>
- Gonzalez, H. M. (2018). *Aprovechamiento de subproductos en la industria alimentaria para la obtencion de compuestos bioactivos*. Mexico: AGT Editor.
- INIFAP. (2020).
- JÁE. (22 de julio de 2021). *Legumbres, cultivo sostenible*. Obtenido de <https://legumbresjae.com/legumbres-jae-cultivo-sostenible/#:~:text=En%20particular%2C%20las%20lentejas%20son,4%20kg%20CO2%2Fkg.&text=Las%20legumbres%20permiten%20un%20cultivo%20sostenible.>
- Mendoza, A. B. (1999). Absorción y Asimilación de hierro en las plantas. *departamento de horticultura, universidad autonoma agraria Antonio Narro*, 1-18.
- Montoya, D. (1 de Noviembre de 2023). *Evaluación de compuestos antinutricios, propiedades tecno-funcionales y digestión in vitro de harinas de leguminosas extrudidas*. Obtenido de <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9972>

- Na-Nakorn, K., Kulrattanak, T., Hamaker, B., & Tongta, S. (2019). Starch digestion kinetics of extruded reformed rice is changed in different ways with added protein or fiber. *Food & Function*, 10(8), 4557-4583. doi:<https://doi.org/10.1039/C9FO00521H>
- Oblitas, C. (2017). Tecnologías emergentes en la preservación de alimentos . *Caxamarca* 16(2), 151-161.
- Pieniazek, F., Sancho, A., & Messina, V. (2015). Texture and color analysis of lentils and rice for instant meal using image process techniques. *Journal of Food Processing and Preservation* , 4-5.
- Rawal, V., & Bansal, V. (2019). Lentil: emergence of large-scale, export-oriented production . En V. Rawal, & D. K. Navarro, *The Global Economy of Pulses* (págs. 77-79). Rome : FAO.
- Ronald. (2011). *Composicion y analisis de alimentos de Pearson*. Mexico: Patria.
- Sáenz-Reyes, J. T.-F.-R.-S.-Q.-R. (2022). Diagnóstico del cultivo de lenteja en unidades de producción familiar en Michoacán. . *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(spe27), 35-44.
- Sánchez, V. (2014). *Respositorio del Instituto Politécnico Nacional CICATA-QRO*. Obtenido de <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/13043>
- SIAP. (07 de Octubre de 2020). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Datos abiertos. Estadística de Producción Agrícola*. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- SIAP. (2021).
- Solis, J. A. (2004). Actividad microbiana del suelo bajo diferentes sistemas de producción de maíz . *Agrociencia*, 13-22.
- Valencia, L., & Montoya, A. (2021). *Harinas no convencionales con alto contenido proteico elaboradas a partir de legumbres y sus aplicaciones en la industria de alimentos : revisión bibliográfica*. Obtenido de <https://hdl.handle.net/10893/22081>
- Vega, C., Pérez-Bravo, F., & Mariotti-Celis, M. (2023). *Revista chilena de nutrición*, 50(2), 233-241. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182023000200233>
- Vicente, L. (23 de Septiembre de 2017). *Evaluación de la capacidad antioxidante y su relación con la composición fenólica en lentejas*. Obtenido de https://gredos.usal.es/bitstream/10366/137920/1/TG_VICENTE%20PASUCAL,%20Laura_%20Evaluación%20de%20la%20capacidad%20antioxidante.pdf
- Wanjiru, J. (2018). Analysis of the factors that determine food acceptability. *The Pharma Innovation Journal*, 7(5), 253-257.

“EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE DIFERENTES EXTRACTOS NATURALES CON MICROORGANISMOS PATOGENOS DE TILAPIA (*Oreochromis sp*) CULTIVADA EN EL LAGO DE LA UPTX”

Vanessa Michell Quiroz González¹, Daniela Muñoz Berruecos¹, Yulieth Rugerio Flores¹, Raquel Nava Moreno¹, Alejandrina Sánchez Cuenca¹, Karen Lizbeth Barreda Reyes¹, Luis Alberto Santiago Santiago¹

Departamento de Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica de Tlaxcala, Avenida Universidad Politécnica No. 1, San Pedro Xalcaltzinco, Tepeyanco, Tlaxcala, Tlax., 90180, México.
luisalberto.santiago@uptlax.edu.mx.

RESUMEN

La acuicultura es una actividad que utiliza los conocimientos sobre biología, biotecnología, ingeniería y ecología para así ayudar a resolver problemas relacionados con la vida y el medio ambiente contribuyendo al desarrollo sostenible y al bienestar humano. Dicha actividad se ha dividido en varios tipos gracias a la variedad de organismos que se pueden cosechar, entre ellos destaca la piscicultura que es una de las actividades más utilizadas en todo el mundo para la producción de peces destinados al consumo humano, entre la gran variedad de peces que se cultivan, se encuentra la Tilapia debido a que es un pez de buen sabor y de rápido crecimiento, con posibilidad de cultivarse en estanques y en jaulas, soporta altas densidades, resiste a condiciones ambientales adversas, tolera bajas concentraciones de oxígeno, es capaz de utilizar la productividad primaria de los estanques y puede ser manipulado genéticamente. En los sistemas de producción las bacterias son organismos patógenos causantes de enfermedades y pérdidas en la producción, por lo cual se hace necesario realizar el análisis e identificación de microorganismos patógenos en los cuerpos de agua de cultivo, para generar un programa de prevención y control de enfermedades relacionadas con la presencia de éstas. En este proyecto se desarrolló y validó una metodología utilizando cepas ATCC para el **nuevo híbrido de Tilapia (*Oreochromis sp*)** cultivada en el Lago Artificial de la UPTx de donde se tomaron los especímenes. Realizando la preparación del medio de cultivo **Dorset modificado** y la activación de **cepas ATCC (*S. aureus* 25923 y *E. coli* 25922)**, los **análisis clínicos** y la inoculación de mo. así como pruebas bioquímicas y desarrollo de antibiogramas con los extractos naturales de: Árnica, Ruda, Menta, Hierba Buena, Ajo y Jengibre. Tomando como base los resultados obtenidos en el medio de huevo Dorset modificado en el que se sembraron las cepas ATCC de *S. aureus* y *E. coli*, como referencia para el crecimiento de microorganismos patógenos, se pudo observar el crecimiento moderado y con brillo metálico de las colonias sembradas de *E. coli* y colonias con crecimiento moderado y de color beige de *S. aureus*. En los antibiogramas para *S. aureus* el extracto de ruda fresca y seca presentaron buenos resultados, obteniendo halos desde los 11 mm hasta los 25 mm, para la inhibición de *E. coli* la menta en seco y el ajo en fresco, presentaron buenos resultados teniendo halos de 10 mm a 13 mm, podemos concluir que los extractos naturales que fueron seleccionados para estas pruebas pueden ser utilizados como tratamientos para enfermedades en peces ocasionadas por bacterias.

Palabras Clave: Tilapia (*Oreochromis sp*), antibiogramas, Medio Dorset modificado y microorganismos patógenos.

INTRODUCCIÓN

La piscicultura es una de las mejores técnicas ideadas por el hombre para incrementar la disponibilidad de alimento y se presenta como una nueva alternativa para la administración de los recursos acuáticos. La acuicultura, como actividad multidisciplinaria, constituye una empresa productiva que utiliza los conocimientos sobre biología, biotecnología, ingeniería y ecología, para ayudar a resolver el problema nutricional, y según la clase de organismos que se cultivan, se ha

dividido en varios tipos, siendo uno de los más desarrollados la piscicultura o cultivo de peces como la tilapia, ya que es un pez de buen sabor y rápido crecimiento, con posibilidad de cultivarse en estanques y en jaulas, soporta altas densidades, resiste a condiciones ambientales adversas, tolera bajas concentraciones de oxígeno y es capaz de utilizar la productividad primaria de los estanques, y puede ser manipulado genéticamente.

La tilapia cultivada en la Universidad Politécnica de Tlaxcala es un híbrido que surge del cruce de cuatro especies, dándole la resistencia al frío del clima de Tlaxcala la variedad *Rocky mountain* que es una variedad canadiense. Este híbrido es altamente productivo debido a su rápido crecimiento, resistencia a enfermedades, elevada productividad, tolerancia a condiciones de alta densidad, capacidad para sobrevivir a diferentes salinidades, así como la aceptación de una amplia variedad de alimentos balanceados de tipo comercial de acuerdo con las necesidades de la especie. El desarrollo de esta especie se lleva a cabo en ambientes acuáticos dulceacuícolas (ríos, embalses, arroyos o lagos) y salobres (lagunas y estuarios).

Las enfermedades bacterianas en los cultivos de tilapia representan un gran riesgo para los productores debido a las condiciones necesarias que se requiere para esta especie es la producción semi intensiva e intensiva. El bajo mantenimiento del agua favorece la producción de las mismas y el establecimiento de bacterias, las cuales pueden diseminarse fácilmente de una unidad de producción a otra, por ende, dentro del lago de la Universidad debido a que el lago no mantiene las condiciones óptimas debido a que requiere algunas modificaciones para la eliminación de los sólidos y para el recambio del agua, existe una alta probabilidad de que la tilapia en reproducción adquiera bacterias.

Las enfermedades infecciosas en los sistemas de producción de tilapia generalmente se deben a la mala calidad de agua, debido a una sobre carga de producción y a la presencia de organismos patógenos (Leal et al. 2009). Uno de los factores para que existan microorganismos patógenos es el aporte de aguas sin tratamiento, la resuspensión de la comunidad bacteriana del sedimento y la falta de buenas prácticas de producción acuícola en el manejo del sistema de producción. Las enfermedades generan pérdidas de la producción y económicas importantes a los productores principalmente en los estadios de cría y alevinaje, debido a que su sistema inmunológico aún se encuentra en desarrollo, aunque también se da en etapa adulta como es la Francisella. Para poder reproducir esta especie, es importante tener en cuenta ciertas especificaciones fisicoquímicas que debe cumplir su hábitat, ya que, al no cumplir con estas, se pueden generar agentes infecciosos como *Pseudomona sp.*, *Aeromonas sp.*, *Vibrio spp.*, etc. La Universidad Politécnica de Tlaxcala posee un lago artificial donde se han introducido ejemplares de esta especie. Por este motivo, se desarrolló una metodología empleando cepas ATCC, medio de cultivo Dorset modificado y extractos vegetales, con el objetivo de encontrar una alternativa natural para el tratamiento de agentes infecciosos que pueden dañar no solamente a la especie, sino también al ser humano durante su consumo.

PARTE EXPERIMENTAL

A lo largo de este proyecto se desarrolló y validó una metodología utilizando cepas ATCC para el nuevo híbrido de Tilapia (*Oreochromis sp*) cultivada en el Lago Artificial de la UPTx de donde se tomaron los especímenes. Realizando la preparación del medio de cultivo Dorset modificado y la activación de cepas ATCC (*S. aureus* 25923 y *E. coli* 25922), los análisis clínicos y la inoculación de los microorganismos, así como pruebas bioquímicas y desarrollo de antibiogramas con los extractos naturales de: Árnica, Ruda, Menta, Hierba Buena, Ajo y Jengibre.

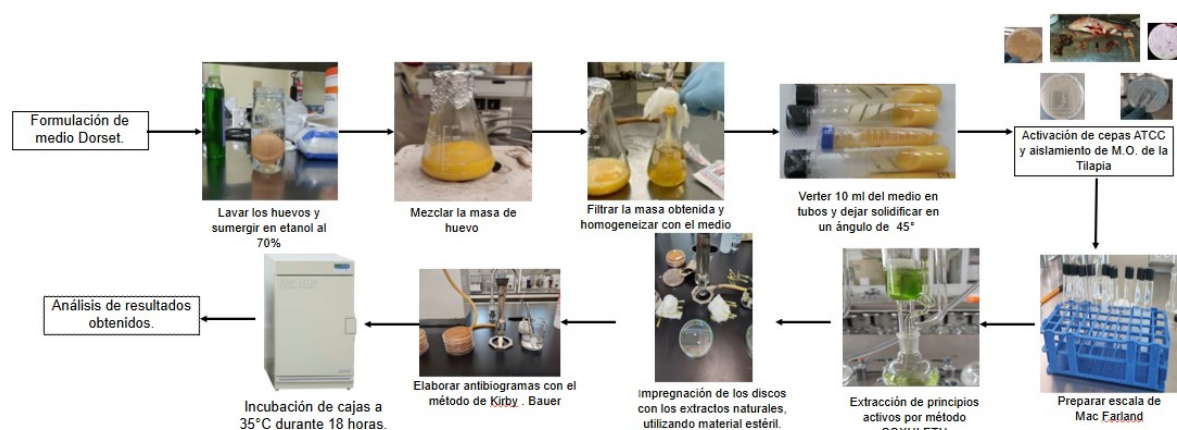
Se utilizaron los siguientes materiales y equipos para poder llevar a cabo la realización del proyecto.

Tabla 1. Materiales utilizados durante el proyecto.

Material	Capacidad	Material	Capacidad	Equipo	Equipo
Matraz Erlenmeyer	250 ml	Agar nutritivo		Balanza analítica	Micropipeta
Probeta	250 ml	Mechero Fisher	2	Autoclave	Espátula
Tubos de cultivo con tapón de rosca	20 x 150 ml	Asa Drigalsky	1	Parrilla de calentamiento	Equipo Soxhlet
				Incubadora a 34°C	

La metodología que se realizó se presenta en el siguiente diagrama:

Figura1. Diagrama de proceso de activación de microorganismos y medición de actividad biológica de los extractos.



RESULTADOS

Tabla 2. Resultados de crecimiento en Medio de huevo Dorset.

Cepa	Descripción	Imagen	Observaciones
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Medio de huevo Dorset Modificado con Agar Nutritivo BD Bioxon ^{MR} en <i>E. coli</i> .		Crecimiento moderado, colonias con brillo metálico
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Medio de huevo Dorset Modificado con Agar Nutritivo BD		Crecimiento denso, colonias de color beige

	Bioxon ^{MR} en <i>S. aureus</i>		

Tabla 3. Resultados del análisis clínico de la tilapia muestreada del lago artificial de la UPTX.

Historial clínico			
Análisis solicitado		Necropsia	Análisis clínico
Registro de necropsia No.		1	
Granja:		Lago de la UPTX	
Nombre científico:		Oreochromis sp	
Peso:		5 gr	
Longitud cabeza:		1.9 cm	
Longitud torso:		3 cm	
Longitud total:		8.3	
Sexo:		Hembra	
Grupo etario: (ovas, alevín, cría, juvenil, reproductor)		Juvenil	
Examen Clínico			
Inspección Externa			
Mucosidad:		Acuosa y transparente.	
Piel:		Lisa, húmeda y brillante, se observan pequeños puntos rojos.	
Aletas:		Todas las aletas se encontraban en perfectas condiciones, franjas regulares y definidas.	
Ojos:		Saltones, brillantes, húmedos y cristalinos.	
Branquias:		De color rojo intenso, húmedas y brillantes.	
Boca:		No se encontró la presencia de parásitos o de alguna lesión.	
Inspección Interna			
Sistema digestivo (hígado, estómago, intestino):		No se encontraron anomalías	
Sistema Urinario (riñón caudal):		No se encontraron anomalías	
Sistema cardiovascular (corazón):		No se encontraron anomalías	
Sistema respiratorio (branquias):		No se encontraron anomalías	

Tabla 4. Resultados de la Tinción de Órganos.

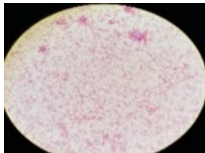
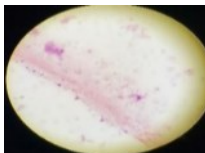
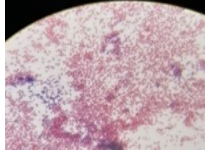
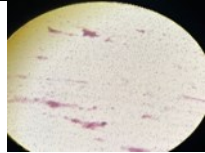
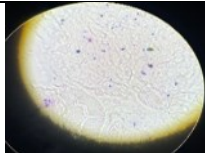
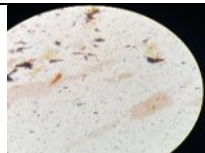
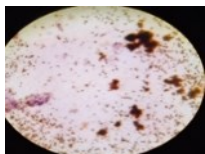
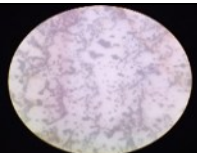
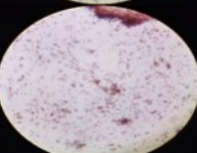
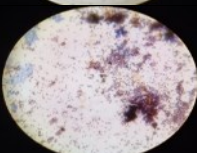
Resultados de Tinción de Órganos			
Tipo de muestra	Tipo de medio	Evidencia	Observaciones
Corazón	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos color rosa (Gram negativos)
Cerebro	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos y cocobacilos color rosa (Gram negativos)
Intestino	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos color morado (Gram positivos)
Hígado	Dorset Modificado Agar		Se observan cocos color morado (Gram positivos)
Branquias	Dorset Modificado Agar		Se observan cocos color morado (Gram positivos)
Pulmón	Dorset Modificado Agar		Se observan cocos color rosa (Gram negativos)

Tabla 5. Tinción de la siembra de las Muestras de Agua.

Resultados de tabla de Tinción de muestras de agua			
Tipo de muestra	Tipo de medio	Evidencia	Observaciones
Orilla de lado de la biblioteca	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos color rosa (Gram negativos)

Orilla del lado del árbol	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos color rosa (Gram negativos)
Centro del lago	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos color rosa (Gram negativos)
Orilla del lado del invernadero	Dorset Modificado Agar		Se observan bacilos color morado (Gram positivos)

Resultados de los extractos naturales en fresco y seco utilizados en las cepas de referencia ATCC.

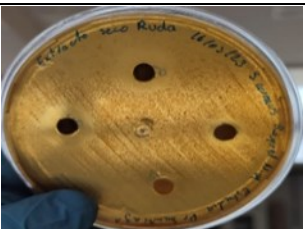
Tabla 6. Extracto de Ruda Fresca en <i>S. aureus</i> ATCC 25923		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 µl	16 mm	
100 µl	19 mm	
150 µl	25 mm	
Extracto de Ruda en seco		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 µl	11 mm	
120 µl	15 mm	
160 µl	19 mm	

Tabla 7. Extracto de Árnica Fresca en <i>S. aureus</i> ATCC 25923		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 µl	11 mm	

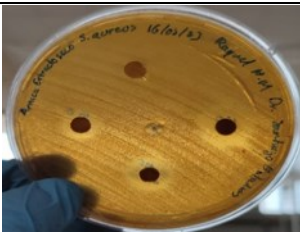
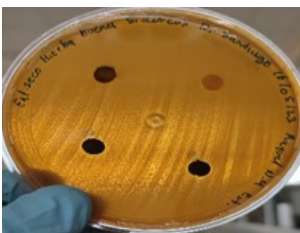
100 μ l	12 mm	
150 μ l	14 mm	
Extracto de Árnica en seco		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 μ l	10 mm	
115 μ l	13 mm	
160 μ l	16 mm	
Tabla 8. Extracto de Hierba Buena Fresca en <i>S. aureus</i> ATCC 25923		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 μ l	--	
130 μ l	11 mm	
200 μ l	12 mm	
Extracto de Hierba Buena en seco		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
60 μ l	--	
110 μ l	--	
150 μ l	El halo de inhibición que se percibe es difícil de medir	

Tabla 9. Extracto de Menta Fresca en <i>S. aureus</i> ATCC 25923		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 μ l	10 mm	

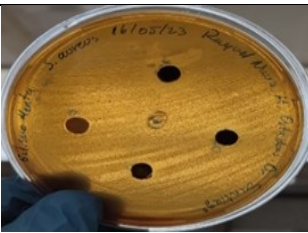
100 μ l	12 mm	
150 μ l	15 mm	
Extracto de Menta en seco		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
80 μ l	11 mm	
150 μ l	13 mm	
200 μ l	15 mm	

Tabla 10. Extracto de Ruda fresca en *E. coli* ATCC 25922

Tabla 10. Extracto de Ruda fresca en <i>E. coli</i> ATCC 25922		
Concentración vol. (μl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 μl	--	
100 μl	--	
150 μl	--	
Extracto de Ruda en seco		
Concentración vol. (μl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 μl	--	
120 μl	--	
160 μl	--	

Tabla 11. Extracto de Menta fresca en *E. coli* ATCC 25922

Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
220 μ l	--	
270 μ l	--	

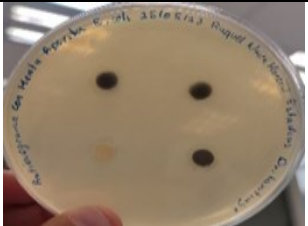
320 μ l	--	
Extracto de Menta seca		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
220 μ l	10 mm	
270 μ l	12 mm	
320 μ l	13 mm	

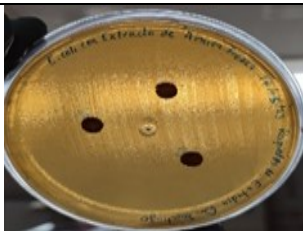
Tabla 12. Extracto de Árnica fresca en <i>E. coli</i> ATCC 25922		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 µl	--	
100 µl	--	
150 µl	--	
Extracto de Árnica en seco		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50 µl	--	
115 µl	--	
160 µl	--	

Tabla 13. Extracto de Hierba Buena fresca en <i>E. coli</i> ATCC 25922		
Concentración vol. (μ l)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
50	--	
130	--	

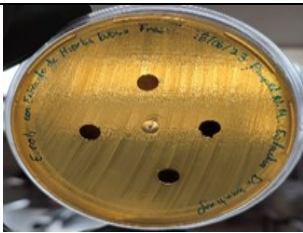
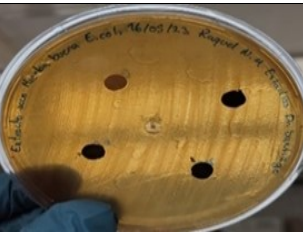
200	--	
Extracto de Hierba Buena Seca		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
60	--	
110	--	
150	--	

Tabla 14. Extracto de Jengibre fresco en <i>E. coli</i> ATCC 25922		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
150	--	
200	--	
250	--	
Extracto de Jengibre seco		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
150	--	
200	--	
250	--	

Tabla 15. Extracto de Ajo fresco en <i>E. coli</i> ATCC 25922		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
160	10 mm	
210	12 mm	

260	13 mm	
Extracto de Ajo seco		
Concentración vol. (µl)	Halo de inhibición (mm)	Evidencia
150	--	
200	1 mm	
250	2 mm	

CONCLUSIONES

Basándonos en los resultados, el medio Dorset modificado con huevo y agar nutritivo proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano, para aislamiento e identificación de Microorganismos patógenos de la tilapia. El brillo metálico observado en las colonias de *E. coli* podría estar asociado con la producción de ciertos compuestos metabólicos, el color de las colonias de *S. aureus* podría deberse a la presencia de pigmentos específicos de la pared celular de la bacteria. Esto destaca la importancia de seleccionar medios de cultivo considerando las características fenotípicas de las bacterias en el diagnóstico microbiológico y la investigación científica en diversas especies. Al analizar los resultados obtenidos en los antibiogramas, se concluye que los extractos de ruda demostraron ser altamente efectivos contra cepas de *S. aureus*, exhibiendo halos de inhibición notables, lo que sugiere su potencial aplicación en el tratamiento de enfermedades bacterianas en peces. Por otro lado, los extractos de menta seca y ajo fresco mostraron una capacidad similarmente prometedora contra cepas de *E. coli*, aunque con halos de inhibición ligeramente menores en comparación con la ruda frente a *S. aureus*. Esto nos sugiere una posible aplicación en tratamientos contra diversos microorganismos patógenos en *Oreochromis sp.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez, C. A., (2019). Extracción, caracterización y evaluación de actividad antimicrobiana de los principios activos de *Phytolacca icosandra* frente a microorganismo patógenos para el ser humano. Revista científica de México, Cap. 2, pág. 942-947.
2. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. (2002). Ministerio de Salud de Perú Instituto Nacional de Salud, 30.
3. Términos - Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana :: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (s. f.).
4. Leal, Yubiry, Reyes, Mayra, Álvarez, Julia D, Obregón, José y Viña, Xiomara. (2009). Enteropatogenicidad de bacterias aisladas de peces, del agua y plancton de su entorn

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE UN HONGO FITOPATÓGENO DE IMPORTANCIA AGRONÓMICA

Jennifer Isabel López Pérez¹, Alondra Martínez Ajo², José Francisco López Pérez², María Fernanda Juárez Cisneros², Juan Luis Pichardo Molina³, Julio César Villagómez Castro², José Pedro Castruita Domínguez⁴, Lérica Liss Flores Villavicencio^{2*}

¹Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Guanajuato del IPN

²Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato

³Centro de Investigaciones en Óptica, A. C.

⁴Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara
isabel.lopezp66@gmail.com, *lflores@ugto.mx

RESUMEN

La formación de biopelículas de hongos fitopatógenos como *Pestalotiopsis clavispora*, tras la infección de su hospedero, representan un reto importante debido a que ocasionan enfermedades (mancha foliar, cáncer de tallo) en cultivos de importancia agronómica, tales como el arándano azul, fresa, aguacate, entre otros; provocando grandes pérdidas económicas. México ocupa el quinto lugar a nivel mundial como país productor de arándano azul, con una derrama económica de 4,613 millones de pesos (SIAP, 2023). Por lo tanto, en el presente trabajo se tiene como objetivo la caracterización de la formación de la biopelícula de este fitopatógeno. Para ello, los conidios maduros se obtuvieron de un cultivo fúngico en medio agar papa-dextrosa (PDA). Para la formación de la biopelícula, se sembraron 100,000 conidios/mL en placas de 24 pozos con medio de cultivo PDA o medio mínimo de Mathur (MMM); los cuales se incubaron a 28 °C. Primeramente, se analizó la etapa de adhesión del conidio en un tiempo de 1, 3, 6 y 12 h; para ello, se evaluó la biomasa celular mediante el ensayo de cristal violeta (CV) y se determinó el porcentaje de conidios adheridos, cuantificando en cámara de Neubauer los conidios no adheridos. Posteriormente, para evaluar el desarrollo de la biopelícula fúngica, se determinó a 0, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 h de incubación, la biomasa celular (CV) y la actividad metabólica mitocondrial con el ensayo de XTT. La formación de la biopelícula se observó utilizando microscopía de campo claro y fluorescencia con el colorante blanco de Clacofluor, obteniendo las microfotografías con una cámara AxioCam ICc1 (Carl Zeiss). Los resultados muestran que el proceso de adhesión a la superficie por los conidios de *P. clavispora* fue semejante en MMM o en PDA, el cual se llevó a cabo en una hora con una biomasa en PDA, determinada por su absorbencia a 570 nm, de 0.07 y, de 0.069 para el MMM, sugiriendo que el proceso de adhesión es independiente del medio de cultivo empleado. Por otra parte, se observó la diferenciación del conidio a micelio a las 12 h y, a partir de ese momento, un crecimiento exponencial hasta las 72 h, sugiriendo el desarrollo de la biopelícula madura en este tiempo de incubación. La actividad metabólica correlacionó directamente con el crecimiento micelial desde las 24 y hasta las 72 h, mientras que en el análisis microscópico se observó claramente la diferenciación del conidio a micelio y la formación de un entramado denso del micelio a las 72 h. Nuestros resultados, si bien preliminares, manifiestan la importancia de la caracterización de las biopelículas en hongos fitopatógenos, como se ha estado realizando en patógenos de animales, para así comprender el proceso infectivo patógeno-hospedero y fundamentar la propuesta de estrategias para su control.

INTRODUCCIÓN

La importancia del cultivo de arándano en México

Actualmente, existe un incremento en la demanda por la producción y consumo de blueberries en México y el mundo, debido a sus propiedades benéficas para la salud de los consumidores (Li, L. *et al.* 2016; Sater, H. M. *et al.* 2020; Varo, M. A. *et al.* 2022). En el caso del arándano, *Vaccinium* spp. consta de aproximadamente 450 especies (Varo, M. A. *et al.*, 2022; Song, G. Q., 2015), tales como *Vaccinium corymbosum*, *V. vitis-idaea*, *V. macrocarpon*, *V. oxycoccus* (cranberry), *V. microcarpum*, *V. uliginosum*, *V. myrtillus*, *V. arctostaphylos*, y *V. cylindraceum*, entre otras (Tundis, R. *et al.*, 2021); de las cuales el arándano azul (*Vaccinium corymbosum*), arándano de arbusto bajo (*Vaccinium angustifolium*) y el arándano de arbusto alto (*V. corymbosum*) son las especies que predominan en

el mercado agrícola (Li, L. *et al.*, 2016; Song, G. Q., 2015). *Vaccinium* spp. tiene un gran valor nutricional, es bajo en azúcar, y tiene alto contenido de antioxidantes, fibra, y vitamina A (SIAP, 2020, Silva S. *et al.* 2020) (Fig. 1). Dichas características, le confieren propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, antiulcerosas, entre otras; lo que lo convierte en un cultivo de importancia agrícola y económica (Sater, H. M. *et al.* 2020; Varo, M. A. *et al.* 2022; Song, G. Q. 2015; Wang, H. *et al.*, 2017; Yuan, B. Z. *et al.*, 2021).



Figura 1. Arándano azul (*V. corymbosum*) (Imagen tomada del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). El fruto está recubierto por una serosidad en su epidermis, lo que le confiere características deseables por los consumidores al tener mayor durabilidad postcosecha, a diferencia de otras bayas como la frambuesa o grosella; repercutiendo en una gran demanda a nivel mundial (SIAP, 2023).

En este sentido, México se ha posicionado en el quinto lugar como país productor de arándano azul (*Vaccinium corymbosum*) a nivel mundial, con una producción anual de alrededor de 66 847 toneladas, generando en el 2022 un nuevo récord en las divisas obtenidas: 629 millones de dólares (Fig. 2) (SIAP, 2023). Los estados de Jalisco, Michoacán y Sinaloa aportan la mayor producción nacional de arándano azul en el país, siendo Jalisco el estado ubicado en el primer lugar como productor anual (Fig. 2) (SIAP, 2023).



Figura 2. Gráficos del volumen de producción de arándano azul en México anualmente y el volumen de producción por entidad federativa. (Imagen tomada del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (2023).

Por otra parte, un aspecto importante en el cultivo de *Vaccinium* spp. es el impacto de las enfermedades ocasionadas por diferentes fitopatógenos que afectan el desarrollo de la planta y la producción de frutos, tal es el caso de hongos como *Pestalotiopsis* spp. el cuál pertenece a la familia *Amphisphaeriaceae*, hongos endófitos asexuales y su morfología se caracteriza por presentar conidios con cinco células, apéndices apicales y basales (Yang, X. L. *et al.* 2012; Yi-Lan, J. *et al.*, 2021; Zhao, D. *et al.* 2021). Algunos de los hábitats en donde se pueden encontrar las especies de

este género son lagos, ríos, océanos, aire, suelo y tejidos de plantas (Wu, C. *et al.* 2022). *Pestalotiopsis* spp. causa varias enfermedades en *V. corymbosum*; tales como manchas foliares, clorosis, necrosis en tallos jóvenes, muerte de las ramillas terminales y cáncer; liberando conidios de color negro grisáceo al levantarse la corteza en los tallos (Hernández-Ceja, A. *et al.* 2021; Darapanit, A. *et al.* 2021; Espinoza, J. G. *et al.* 2008). A nivel agrícola e industrial, la enfermedad causada por este hongo fitopatógeno es común y recurrente en invernaderos, dadas las condiciones de temperatura y alta humedad relativa, siendo condiciones idóneas y propicias para el desarrollo y la propagación de este fitopatógeno (Cisternas E. *et al.* 2009); ocasionando grandes pérdidas económicas y por consiguiente un incremento en el costo de la producción (Hernández-Ceja, A. *et al.* 2021).

Formación de biopelículas en hongos fitopatógenos

Las biopelículas son estructuras de consorcios de microorganismos altamente estructurados y embebidos en una matriz extracelular (mezcla compleja de biomoléculas, como polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos); lo cual le confiere la adhesión a una superficie biótica o abiótica (Fannin S. y Mitchell AP., 2012; Rajendran R. *et al.* 2013; Reichhardt J. *et al.* 2015), proporcionan una protección contra las respuestas de defensa del huésped, los tratamientos antimicrobianos y las condiciones ambientales extremas (Fannin S. y Mitchell AP., 2012; Harding MW. *et al.* 2009; Pereira, R. *et al.* 2021; Ramage G. *et al.* 2011). En este sentido, los estudios sobre el desarrollo y la estructura de biopelículas en hongos patógenos de humanos, han dilucidado recientemente su papel en el proceso de patogenicidad, mostrando cambios en la fisiología celular fúngica, la expresión diferencial de genes, así como modificaciones fenotípicas, genéticas y estructurales (Baillie G.S. y Douglas LJ., 2000; Beauvais, A. *et al.* 2014; González-Ramírez, A. I. *et al.* 2016; Hawser SP. *et al.* 1998; Roudbary, M., *et al.* 2022; Sánchez-Herrera R. *et al.* 2021; Thomas DP. *et al.* 2006). Por otra parte, a pesar del incremento en la investigación de biopelículas fúngicas, es escasa la información de la formación de biopelículas en fitopatógenos de importancia agronómica. Actualmente, se tiene el conocimiento de la formación de biopelículas en algunos hongos fitopatógenos como *Phytophthora parasitica* (Theodorakopoulos N. *et al.* 2011), *Aspergillus fumigatus* (González-Ramírez, A. I. *et al.* 2016) y *Fusarium graminearum* (Shay R. *et al.*, 2022), en los cuales la formación de la biopelícula sugiere un papel en la protección de las células fúngicas de las respuestas del huésped durante el desarrollo de la enfermedad de las plantas (Shay R. *et al.*, 2022). Además, la relevancia en el estudio de las biopelículas de algunos hongos como *Aspergillus fumigatus* y *Phytophthora parasitica*, se debe a que cubren un amplio espectro en términos de aplicaciones médicas, agrícolas, fitopatológicas, veterinarias, y biotecnológicas; debido a su versatilidad metabólica y su aplicación en procesos industriales (González-Ramírez, A. I. *et al.* 2016; Theodorakopoulos N. *et al.* 2011). Por otra parte, un aspecto importante acerca de las biopelículas de hongos patógenos de humanos es que representan una grave amenaza para la salud mundial, ya que están asociadas con infecciones crónicas mortales y resistencia farmacológica (Roudbary, M., *et al.* 2022). En este mismo contexto, es una necesidad urgente el desarrollar nuevas estrategias dirigidas para el control de fitopatógenos antes y después de la cosecha, porque el uso excesivo de fungicidas químicos conduce a la resistencia de los fitopatógenos y por consiguiente a la contaminación del medio ambiente. Por lo tanto, es muy importante establecer una estrategia antifúngica segura y eficaz para mantener la calidad pre y poscosecha del fruto (Hernández Ceja A. *et al.* 2021; Ye, S. *et al.* 2023).

PARTE EXPERIMENTAL

Obtención de los conidios de *Pestalotiopsis clavispora*

Se cultivó *P. clavispora* en medio agar papa-dextrosa (PDA) a 25 °C durante 10 días para la obtención de los conidios. Las características macroscópicas se observaron en un microscopio estereoscopio (Nikon modelo C-PS) y las microscópicas mediante microscopía de campo claro y tinción con Blanco de Calcofluor en microscopía de fluorescencia (Leica DMLS). Los conidios fueron obtenidos de los acervulos y cuantificados en una cámara de Neubauer.

Desarrollo de la biopelícula de *P. clavispora*

Determinación del tiempo de adhesión de los conidios. Se inocularon 1×10^5 conidios/mL en placas de 24 pozos (Corning Costar) y se analizó la adhesión de los conidios en dos medios de cultivo

líquido: Medio Mínimo de Mathur sales y Papa-Dextrosa. Posteriormente, se incubaron a 28 °C durante 1, 3, 6 h; después de cada tiempo de incubación se retiraron los conidios no adheridos y se determinó el porcentaje de adhesión, mediante la cuantificación de los conidios en cámara de Neubauer.

Desarrollo de la biopelícula. Se sembraron 1×10^5 conidios/mL en placas de 96 pozos (Corning Costar) y se analizó en dos medios de cultivo líquido: Medio Mínimo de Mathur sales y Papa-Dextrosa. Posteriormente, se incubaron a 28 °C durante 0 – 120 h. Después de cada periodo de incubación, se determinaron los siguientes parámetros, que a continuación se describen.

Determinación de la actividad metabólica

La actividad metabólica se realizó por el método de XTT (2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-2-h-tetrazolium- 5-carboxanilide), el cual se basa en la reducción de la sal a cristales de formazan solubles en agua, proceso llevado a cabo por las mitocondrias de las células viables. La solución de XTT (Sigma) se preparó con 0.25 mg/mL en Menadiona (Sigma) al 0.1 mM y se adicionó a la biopelícula en los diferentes tiempos, posteriormente, se incubó por 90 min a 37 °C en oscuridad y se midió la absorbencia a 490 nm (Espectrofotómetro Epoch Biotek).

Determinación de la Biomasa

La capacidad de la formación de la biopelícula se evaluó a través de la cuantificación de la biomasa total mediante la tinción con el cristal violeta. Dado que este es un colorante catiónico que se combina fuertemente con componentes celulares cargados negativamente, como es la pared celular de los microorganismos, se usa como un indicador de biomasa. Para ello, la biopelícula se fijó con metanol al 99 % por 15 min, posteriormente, se dejó secar a temperatura ambiente y se adicionó el cristal violeta al 0.01% por 5 min, transcurrido el tiempo se adicionó a la biopelícula ácido acético al 33% y en el sobrenadante recuperado se determinó la absorbencia a 570 nm (Espectrofotómetro Epoch Biotek).

Microscopia de la biopelícula

Para caracterizar la formación de la biopelícula, las muestras fúngicas se analizaron en microscopia de fluorescencia, para ello, se tiñeron con Calcofluor W2R (0.2 % p/v, Sigma-Aldrich), un fluorocromo que tiñe quitina para la determinación de la estructura de la biopelícula. Posteriormente, fueron observadas en un microscopio de fluorescencia (DMLS Leica) con una cámara AxioCam ICc1 (Carl Zeiss).

RESULTADOS

Los cultivos axénicos de *P. clavispora* muestran colonias de micelio con aspecto algodonoso (vista frontal) y la presencia de acérvulos de un color negro (Fig. 3A). Los conidios tienen características versicolor con algunas partes melanizadas y otras hialinas (Fig. 3B y C). Además, presentan de tres a cuatro apéndices apicales y uno basal los cuales se observan claramente teñidos con blanco de Calcofluor (Fig. 3D).

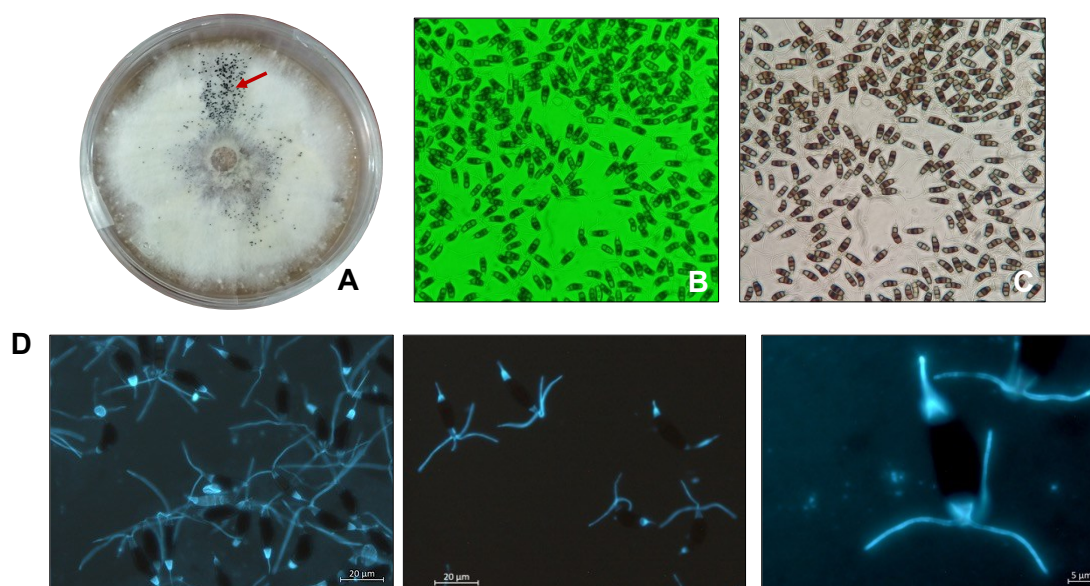


Figura 3. Cultivo de 10 días de *P. clavispora* en Agar Papa-Dextrosa con presencia de acérvulos (A), Conidios pigmentados de melanina obtenidos de los acérvulos, observados en contraste de fases (B, 20x), campo claro (C, 20x) y teñidos con Blanco de Calcofluor (Panel D).

La etapa inicial para la formación de una biopelícula es la adhesión de los conidios a la superficie. Al analizar este proceso en *P. clavispora* se utilizaron dos medios de cultivo, observando desde la primera hora un alto porcentaje de adhesión de los conidios en PDA (70 %) y MMM (96 %). La cuantificación de la biomasa en PDA, determinada por su absorbencia a 570 nm fue de 0.07 y de 0.069 en MMM (Fig. 4 y 5), sugiriendo que la adhesión es independiente del medio de cultivo.

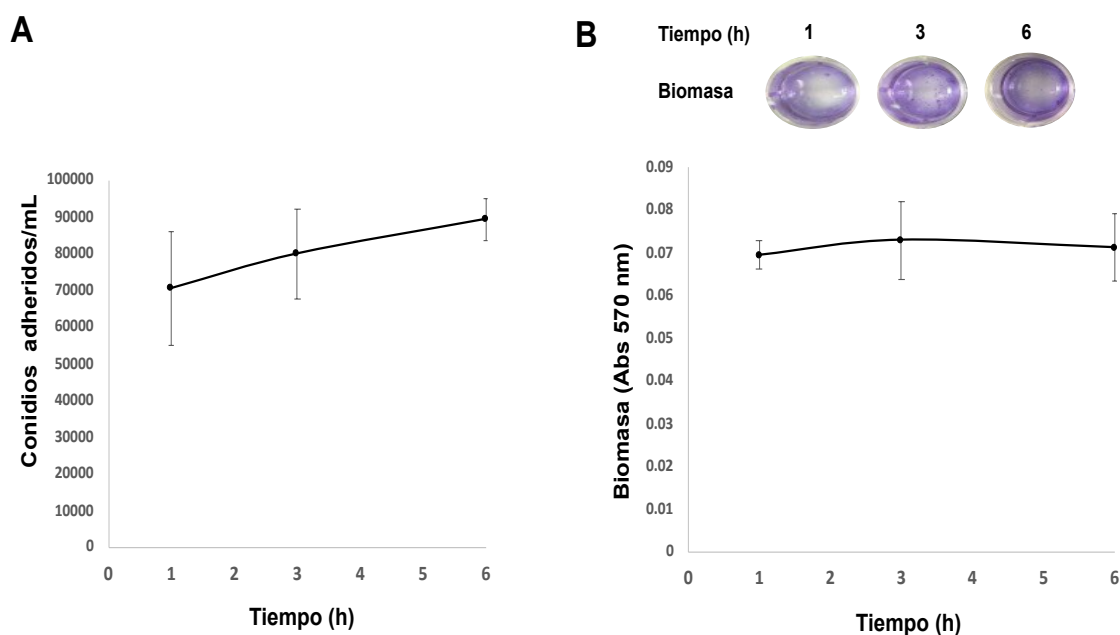


Figura 4. Determinación del tiempo de adhesión a la superficie por los conidios de *P. clavispora* en Papa-Dextrosa (A), Visualización de los conidios adheridos a la superficie teñidos con cristal violeta y la cuantificación de la biomasa (B). Los valores representan el promedio de dos experimentos independientes, n=4.

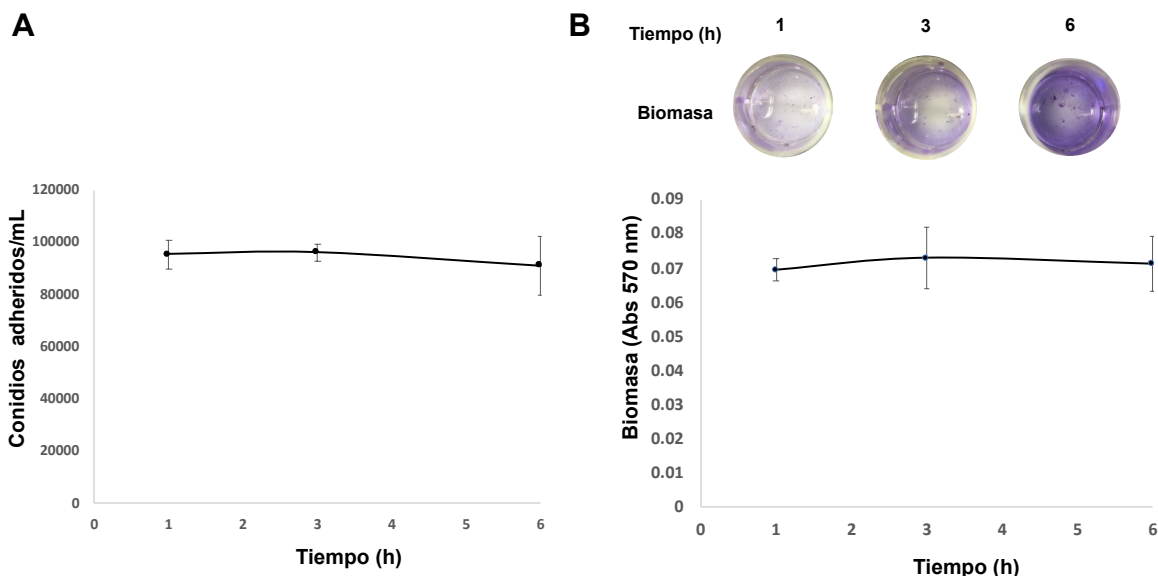


Figura 5. Determinación del tiempo de adhesión a la superficie por los conidios de *P. clavispora* en Medio Mínimo de Mathur sales (A), Visualización de los conidios adheridos a la superficie teñidos con cristal violeta y la cuantificación de la biomasa (B). Los valores representan el promedio de dos experimentos independientes, n=4.

Después de la etapa de adhesión, los conidios inician el desarrollo de la biopelícula observándose la diferenciación del conidio a micelio a las 12 h y, a partir de ese momento, un crecimiento exponencial hasta las 72 h, sugiriendo el desarrollo de la biopelícula madura (Fig. 6 y 7). Aunado a esto, la actividad metabólica correlaciona directamente con el crecimiento micelial desde las 12 h y hasta las 72 h. Observándose en ambas condiciones de cultivo el mismo patrón de desarrollo fúngico (Fig. 6 y 7).

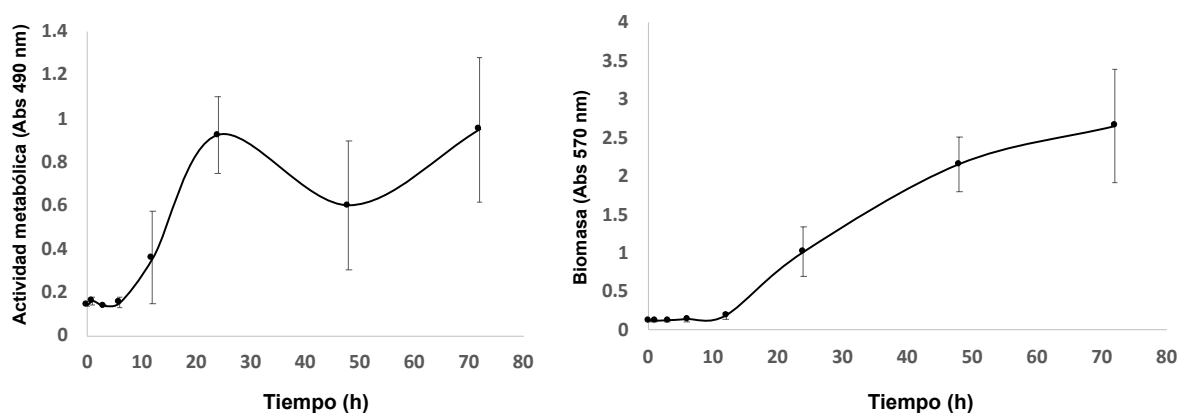


Figura 6. Desarrollo de la biopelícula de *P. clavispora* en Papa-Dextrosa. Los valores representan el promedio de dos experimentos independientes, n=4.

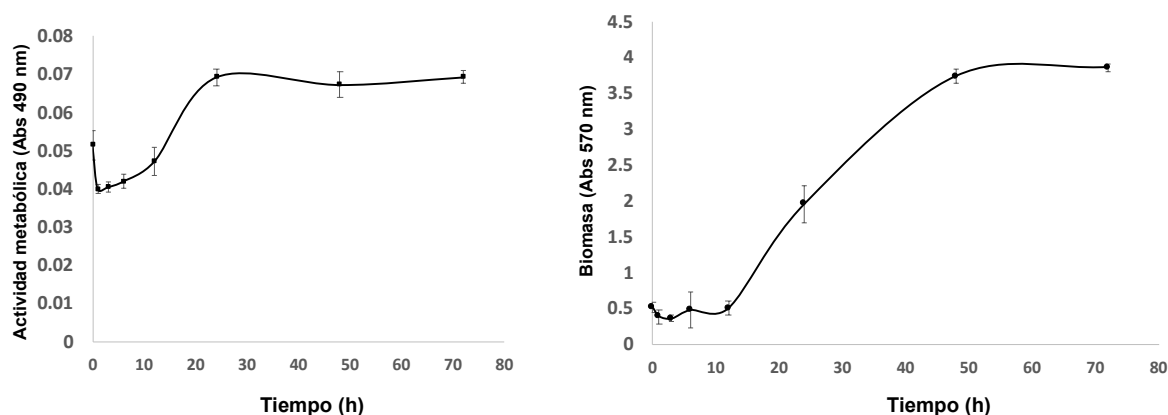


Figura 7. Desarrollo de la biopelícula de *P. clavisporea* en Medio Mínimo de Mathur sales. Los valores representan el promedio de dos experimentos independientes, n=4.

Por otra parte, el análisis de la morfología utilizando una sonda fluorescente como el Blanco de Calcofluor muestra la diferenciación del conidio a micelio y la formación de un entramado denso del micelio a las 72 h (Fig. 8).

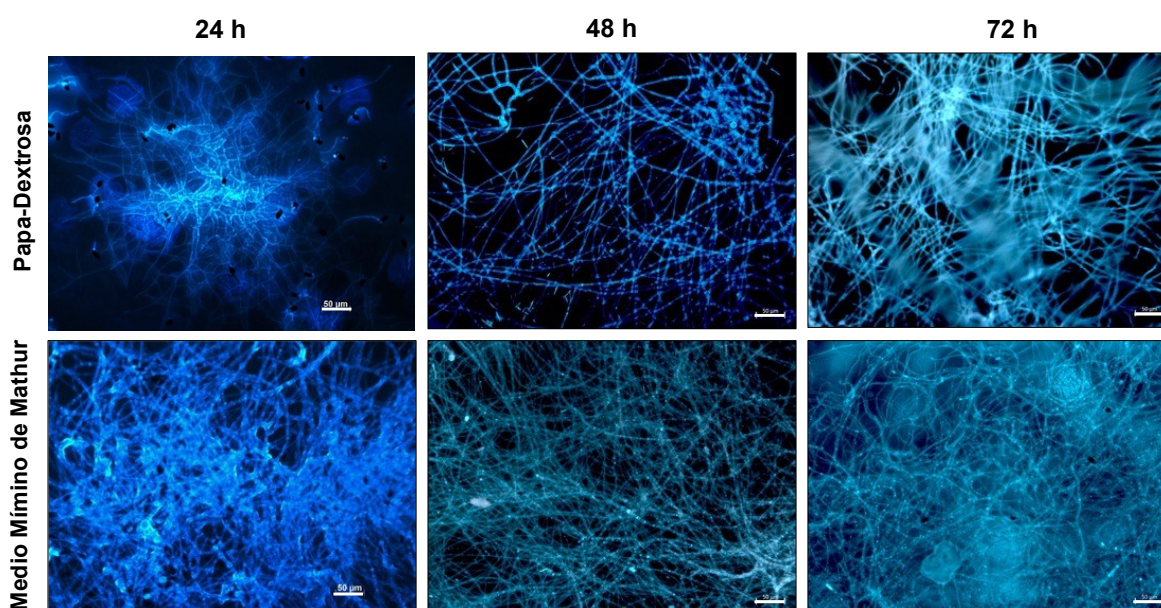


Figura 8. Morfología de la estructura de la biopelícula de *P. clavisporea* en dos medios de cultivo Papa-Dextrosa y Medio Mínimo de Mathur sales. Tinción con Blanco de Calcofluor, Barra= 50 µm.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados preliminares de la formación de biopelículas de *P. clavisporea*, indican que la etapa de adhesión de los conidios a la superficie se llevo a cabo en una hora. Posteriormente, el proceso de diferenciación de conidio a micelio es evidente a las 12 h y, conforme transcurre el tiempo de incubación se desarrollo la formación de la biopelícula. Es evidente que se requieren más estudios, sin embargo los resultados manifiestan la importancia de la caracterización de las

biopelículas en hongos fitopatógenos para así comprender el proceso infectivo patógeno-hospedero y fundamentar la propuesta de estrategias para su control.

Agradecimientos. El estudio se llevo a cabo con el financiamiento del Proyecto 275/2024, de la Convocatoria Institucional de Investigación Científica 2024 de la Universidad de Guanajuato, otorgado a L. L. Flores Villavicencio.

BIBLIOGRAFÍA

1. G. S. Baillie, L. J. Douglas, "Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents", *J Antimicrob Chemother.* Vol. 46, 2000, pp. 397–403.
2. A. Beauvais, T. Fontaine, V. Aimanianda, & J. P. Latgé, "Aspergillus cell wall and biofilm", *Mycopathologia*, Vol. 178, 5-6, 2014, pp. 371–377.
3. E. Cisternas y A. France, "Manual de campo. Plagas, enfermedades y desordenes fisiológicos del arándano en Chile". Chillán, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Boletín INIA N° 189. 2009, p. 88.
4. A. Darapanit, N. Boonyuen, W. Leesutthiphonchai, S. Nuankaew, S., & O. Piasai, "Identification, pathogenicity and effects of plant extracts on *Neopestalotiopsis* and *Pseudopestalotiopsis* causing fruit diseases", *Scientific Reports*, Vol. 11, 1, 2021, pp. 1-11.
5. J. G. Espinoza, E. X. Briceño, E. X., L. M. Keith, & B. A. Latorre, "Canker and twig dieback of blueberry caused by *Pestalotiopsis* spp. and a *Truncatella* sp. in Chile", *Plant Disease*, Vol. 92, 10, 2008, pp. 1407-1414.
6. S. Fanning, A. P. Mitchell, "Fungal biofilms", *PLoS Pathog* 2012, 8:e1002585–4.
7. M. W. Harding, L. L. R. Marques, R. J. Howard, M. E. Olson, "Can filamentous fungi form biofilms?" *Trends Microbiol*, Vol. 17, 2009, pp. 475–480.
8. S. P. Hawser, G. S. Baillie, L. J. Douglas, "Production of extracellular matrix by *Candida albicans* biofilms". *J Med Microbiol* Vol. 47, 1998, pp.253–256.
9. A. Hernández-Ceja, P. D. Loeza-Lara, F. J. Espinosa-García, Y. M. García-Rodríguez, J. R. Medina-Medrano, G. F. Gutiérrez-Hernández, & L. F. Ceja-Torres, "In Vitro Antifungal Activity of Plant Extracts on Pathogenic Fungi of Blueberry (*Vaccinium* sp.)", *Plants (Basel, Switzerland)*, Vol, 10, 5, 2021, pp. 852.
10. L. Li, H. Zhang, Z. Liu, X. Cui, T. Zhang, Y. Li, & L. Zhang, "Comparative transcriptome sequencing and de novo analysis of *Vaccinium corymbosum* during fruit and color development" *BMC plant biology*, Vol. 16, 1, 2016, pp. 1-9.
11. LIMÓN, M. Caracterización morfológica y molecular de *Pestalotiopsis* spp. asociado a cáncer de tallo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en el occidente de México [en línea] (Trabajo de Titulación). (Maestría). Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Jalisco México). 2017. *Consulta*, 2, 32.
12. R. Pereira, R. O. Dos Santos Fontenelle, E. H. S. de Brito, & S. M. de Moraes, (2021). "Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance", *Journal of applied microbiology*, Vol. 131, 1, 2021, pp. 11–22.
13. G. Ramage, R. Rajendran, M. Gutiérrez-Correa, B. Jones, C. Williams, "Aspergillus biofilms: clinical and industrial significance". *FEMS Microbial Lett.* Vol. 324, 2, 2011, pp. 89–97.
14. R. Rajendran, C. Williams, D. F. Lappin, O. Millington, M. Martins, G. Ramage, (2013) "Extracellular DNA release acts as an antifungal resistance mechanism in mature *Aspergillus fumigatus* biofilms", *Eukaryot Cell.* Vol. 12, 2013, pp. 420–429.
15. J. Reichhardt, J. A. Ferreira, L. M. Joubert, K. V. Clemons, D. A. Stevens, L. Cegelskia, "Analysis of the *Aspergillus fumigatus* biofilm extracellular matrix by solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy", *Eukaryotic Cell.* Vol.14, 2015, pp. 1064–1072.
16. M. Roudbary, R. Vahedi-Shahandashti, A. L. S. D. Santos, S. Roudbar Mohammadi, P. Aslani, C. Lass-Flörl, & C. F. Rodrigues, "Biofilm formation in clinically relevant filamentous fungi: a therapeutic challenge". *Critical reviews in microbiology*, Vol. 48, 2, 2022, pp. 197–221.

17. R. Sánchez-Herrera, L. L. Flores-Villavicencio, J. L. Pichardo-Molina, J. P. Castruita-Domínguez, X. Aparicio-Fernández, M. Sabanero López, J. C. Villagómez-Castro, "Analysis of biofilm formation by *Sporothrix schenckii*", *Medical mycology*, Vol. 59, 1, 2021, pp. 31–40.
18. H. M. Sater, L. N. Bizzio, D. M. Tieman, & P. D. Muñoz, "A review of the fruit volatiles found in blueberry and other vaccinium species". *Journal of agricultural and food chemistry*, Vol. 68, 21, 2020, pp. 5777-5786.
19. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). Panorama agroalimentario 2023. Lugar de publicación: https://drive.google.com/file/d/1FWHntHMgJw_uOse_MsOF9jZQDAm_FOD9/view
20. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2020). Panorama agroalimentario 2020, datos de un campo que avanza sin dejar a nadie atrás. Lugar de publicación: <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>
21. R. Shay, A. A. Wiegand, F. Trail, "Biofilm Formation and Structure in the Filamentous Fungus *Fusarium graminearum*, a Plant Pathogen", *Microbiology spectrum*, Vol. 10, 4, 2022, pp. e0017122.
22. S. Silva, E. M. Costa, M. Veiga, R. M. Morais, C. Calhau, M. Pintado, (2020). "Health promoting properties of blueberries: a review", *Critical reviews in food science and nutrition*, Vol. 60, 2, 2020, pp. 181–200.
23. G. Q. Song, Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). In *Agrobacterium Protocols* 2015, pp. 121-131. Springer, New York, NY.
24. N. Theodorakopoulos, B. Govetto, B. Industri, L. Massi, M. Gaysinski, E. Deleury, C. Mura, A. Marais, G. Arbiol, A. Burger, M. Gourgues, F. Panabières, M. Ponchet, E. Galiana, "Biology and ecology of biofilms formed by a plant pathogen *Phytophthora parasitica*: From biochemical ecology to ecological engineering". *Procedia Environ Sci* Vol. 9, 2011, pp. 178–182
25. D. P. Thomas, S. P. Bachmann SP, J. L. Lopez-Ribot, "Proteomics for the analysis of the *Candida albicans* biofilm lifestyle". *Proteomics*. Vol. 6, 2006, pp. 5795–5804.
26. R. Tundis, M. C. Tenuta, M. R. Loizzo, M. Bonesi, F. Finetti, L. Trabalzini, B. Deguin, "Vaccinium species (Ericaceae): From chemical composition to bio-functional activities". *Applied Sciences*, Vol. 11, 12, 2021, pp. 5655.
27. M. A. Varo, M. P. Serratos, J. Martín-Gómez, L. Moyano, J. Mérida, J. "Influence of Fermentation Time on the Phenolic Compounds, Vitamin C, Color and Antioxidant Activity in the Winemaking Process of Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) Wine Obtained by Maceration" *Molecules*, Vol. 27, 22, 2022, pp. 7744.
28. H. Wang, X. Guo, X. Hu, T. Li, X. Fu, R. H. Liu, "Comparison of phytochemical profiles, antioxidant and cellular antioxidant activities of different varieties of blueberry (*Vaccinium* spp.)", *Food chemistry*, Vol. 217, 2017, pp. 773-781.
29. C. Wu, Y. Wang, Y. Yang, "Pestalotiopsis Diversity: Species, Dispositions, Secondary Metabolites, and Bioactivities". *Molecules*, Vol. 27, 22, 2022, pp. 8088.
30. X. L. Yang, J. Z. Zhang, D. Q. Luo, The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. *Natural product reports*, Vol. 29, 6, 2012, pp. 622-641.
31. S. Ye, L. Shuai, D. Luo, L. Ba, "Inhibitory Activity and Mechanism of Action with Thymol against the Blueberry Pathogenic Fungi Caused by *Neopestalotiopsis clavispora*", *Horticulturae*, Vol. 9, 2023, pp. 983.
32. J. Yi-Lan, J., J. Shi-Long, J., J. Xuan-Li, "Disease-resistant identification and analysis to transcriptome differences of blueberry leaf spot induced by beta-aminobutyric acid". *Archives of Microbiology*, Vol. 203, 6, 2021, pp. 3623-3632.
33. B. Z. Yuan, J. Sun, J. "Bibliometric analysis of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) research publications based on Web of Science". *Food Science and Technology*, Vol. 42, 2021.
34. D. Zhao, M. Hu, G. Ma, X. Xu, "Five New Terpenes with Cytotoxic Activity from *Pestalotiopsis* sp.", *Molecules*, Vol. 26, 23, 2021, pp. 7229.

QUITOSANO EN CONCENTRACIÓN FOLIAR DE CLOROFILAS EN PLANTAS DE FRESA SOMETIDAS A ESTRÉS SALINO

Brenda E. Parra-Robles^{1*}, María de la Luz Buendía-Valverde¹, María Guadalupe Peralta-Sánchez¹, Fernando Carlos Gómez-Merino², Yolanda Leticia Fernández-Pavía¹, Ángel Rebollar-Albiter³, Libia Iris Trejo-Téllez¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología, Montecillo, Estado de México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Fisiología Vegetal, Montecillo, Estado de México. ³Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. Texcoco, Estado de México. México. estefania_19@live.com

RESUMEN

El quitosano (CTS) es un biopolímero proveniente de la desacetilación de la quitina que ha mostrado capacidad para reducir el estrés salino en plantas, mejorando el crecimiento mediante la regulación de la presión osmótica celular por el incremento de la disponibilidad y absorción tanto de agua como de nutrientes. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de la aplicación foliar de quitosano (0, 500 y 1000 mg L⁻¹) en la concentración de clorofilas de plantas de fresa sometidas a estrés salino inducido por 50 mM NaCl. Se estableció un experimento completamente al azar bajo condiciones de invernadero con el cultivar de fresa "Aromas". Se realizaron seis aplicaciones foliares en intervalos de 10 d. Se determinaron las concentraciones de clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b) y clorofila total (Chl total), así como la relación de concentración Chl a/Chl b. Los resultados obtenidos se analizaron con el programa SAS [análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$)]. Los tratamientos no tuvieron efecto significativo en la concentración de Chl a. Por el contrario, las concentraciones de Chl b y total se redujeron con la dosis 1000 mg CTS L⁻¹ en comparación con el testigo en 33.4 y 19.9%, respectivamente. En consecuencia, la dosis 1000 mg CTS L⁻¹ aumentó la relación Chl a/Chl b en 30.5 y 38%, en comparación con el testigo y a la dosis 500 mg CTS L⁻¹, respectivamente. Se concluye que la aplicación de 1000 mg CTS L⁻¹ tiende a reducir la concentración de Chl b y total, lo que implica una posible regulación en la captación de luz en condiciones de estrés salino.

INTRODUCCIÓN

El quitosano (CTS) es un biomoléculo, específicamente un mucopolisacárido. De manera natural se encuentra como polímero lineal constituido por unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glucopiranosas (comúnmente llamada glucosamida) ligadas mediante enlaces 1,4-glucosídicos. Proviene de la desacetilación de la quitina; por tanto, toma el nombre de quitosano cuando la concentración de acetilglucosamina es inferior al 50% (Aazami *et al.*, 2023; Román-Doval *et al.*, 2023).

Este biopolímero tiene la capacidad de aumentar el crecimiento de las plantas estimulando sus numerosos parámetros asociados con el crecimiento, como la absorción de nutrientes, la división y la elongación celular (Saad Ullah *et al.*, 2023). Además, el CTS ha mostrado desencadenar numerosas respuestas de defensa relacionadas con factores de estrés tanto bióticos como abióticos (Hidangmayum *et al.*, 2019).

Dentro de los factores de estrés abiótico que limitan en mayor magnitud la producción agrícola, se encuentra la salinidad, cuyo impacto se ha incrementado como resultado del cambio climático global (Ullah *et al.*, 2021; Hasanuzzaman y Fujita, 2022). El exceso de sales ocasiona estrés osmótico, estrés oxidativo y desequilibrio nutricional (Isayenkov y Maathuis, 2019).

El CTS puede reducir los efectos negativos del estrés salino y mejorar el crecimiento al regular la presión osmótica de la célula mediante el aumento en la disponibilidad y absorción de elementos esenciales (Aazami *et al.*, 2023). Estos efectos causados por el CTS son particularmente importantes para cultivos sensibles a la salinidad como la fresa, que adicionalmente tiene gran relevancia económica en México (Medrano-Macias *et al.*, 2021).

La fresa es un fruto con concentraciones importantes de antioxidantes naturales, en el que la aplicación foliar de quitosano ha mostrado promover el crecimiento, incrementar en 42% el rendimiento y aumentar en más de dos veces las concentraciones de antocianinas, flavonoides y compuestos fenólicos (Rahman *et al.*, 2018).

En el contexto actual de cambio constante en las condiciones climáticas y el aumento en la demanda de alimentos que dan como resultado el uso indiscriminado de insumos químicos sintéticos, la aplicación de quitosano como bioestimulante a los cultivos, representa una perspectiva prometedora que permitiría resolver problemas relacionados con la adaptación de las especies vegetales. Por tanto, en este estudio se evaluaron los efectos que la aplicación foliar de quitosano en distintas dosis, tienen en las concentraciones de clorofilas (principales pigmentos fotosintéticos en plantas superiores), en plantas de fresa sometidas estrés salino inducido por la adición de cloruro de sodio a la solución nutritiva empleada para el riego en un sistema hidropónico.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal y condiciones experimentales

El trabajo se realizó en condiciones de invernadero. Se emplearon plantas de fresa (*Fragaria × ananassa* Dutch.) cultivar “Aromas”. Este genotipo muestra resistencia a enfermedades y es de día neutro (Rodríguez-Bautista *et al.*, 2012; González-Jiménez *et al.*, 2020).

Diseño de tratamientos y diseño experimental

En este estudio se evaluó la aplicación de quitosano a plantas de fresa sometidas a estrés salino inducido por la adición de 50 mM NaCl a la solución nutritiva de Steiner (Steiner, 1984), que fue empleada para el riego.

Las dosis de quitosano utilizadas fueron 0, 500 y 1000 mg L⁻¹. En cada fecha de aplicación se preparó una solución de 10 g CTS L⁻¹ empleando HCl 0.1 N como disolvente. A partir de dicha solución se realizaron las diluciones correspondientes a cada una de las dosis evaluadas en esta investigación.

El quitosano empleado tuvo una desacetilación $\geq 75\%$ y bajo peso molecular, suministrado por Sigma-Aldrich (<https://n9.cl/ekebe0>) Se hicieron seis aspersiones foliares en intervalos de 10 d.

El riego con las soluciones nutritivas se realizó con un sistema estaca-gotero con temporizador, los riegos fueron programados en seis tiempos de 2 min a lo largo del día. El volumen suministrando por min fue de 30 mL.

Se condujo un experimento con diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue una bolsa de polietileno negro de 30 x 30 cm con una planta, empleando tezontle como sustrato.

Variables evaluadas

Después de la fase de tratamientos, se determinaron en hojas las concentraciones de clorofila a (Chl a) y clorofila b (Chl b), de acuerdo con el método descrito por Harborne (1973).

Con los resultados obtenidos, se estimó la concentración de clorofila total (Chl total) sumando las concentraciones de Chl a y Chl b; asimismo, se calculó el valor de la relación de concentración Chl a/Chl b.

Análisis de datos

Con los datos de concentraciones de clorofilas a, b y total se realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$), utilizando el software SAS (SAS, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fotosíntesis es un proceso altamente sensible al estrés salino; asimismo, los cambios en los parámetros fotosintéticos son reflejo directo de la función fotosintética. La primera respuesta de plantas sometidas a estrés salino es el cierre de los estomas causado por el estrés osmótico, la disminución de la conductancia estomática que reduce la concentración de CO_2 y con ello se limita la fotosíntesis. En este contexto, la concentración de clorofila es un indicador importante de la senescencia de las hojas y por tanto de su capacidad fotosintética (Lu *et al.*, 2023).

Los tratamientos no tuvieron efecto significativo en la concentración de clorofila a (**Figura 1A**). Por el contrario, las concentraciones foliares de clorofila b y clorofila total se redujeron con la dosis 1000 mg CTS L^{-1} en comparación con el testigo en 33.4 y 19.9%, respectivamente (**Figura 1B-C**). En consecuencia, la aplicación foliar de quitosano en dosis de 1000 mg L^{-1} aumentó la relación clorofila a/clorofila b en 30.5 y 38%, en comparación con el testigo y a la dosis 500 mg CTS L^{-1} , respectivamente (**Figura 1D**).

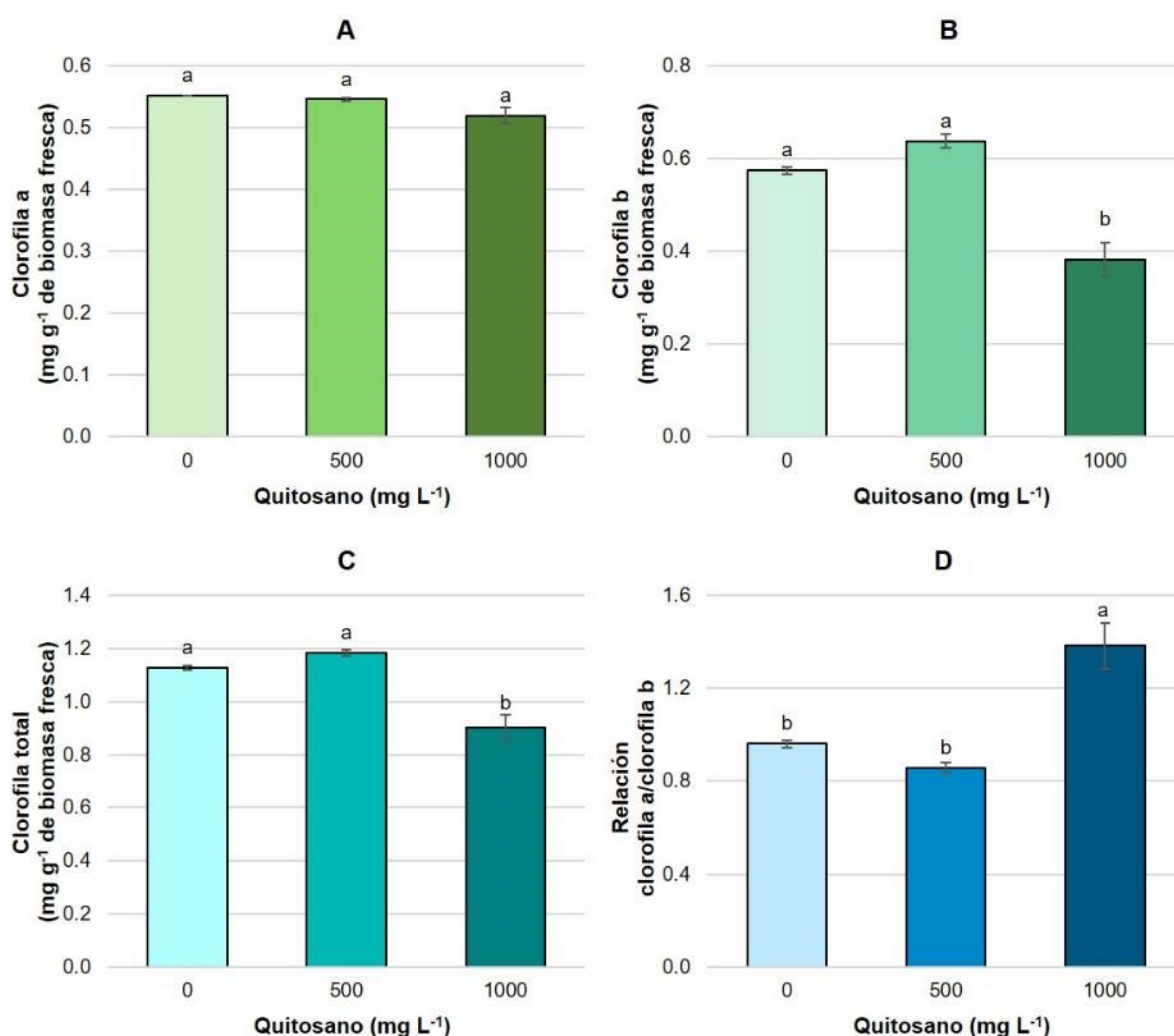


Figura 1. Concentración foliar de clorofilas a (A), b (B), total (C) y relación de concentración de clorofila a y clorofila b (D) de plantas de fresa cv. Aromas bajo estrés salino inducido por 50 mM NaCl con aplicaciones foliares de diferentes dosis de quitosano. Medias $\pm$ DE en cada subfigura con letras distintas, indican diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Se ha reportado que el estrés salino reduce la relación clorofila a/clorofila b (Tatar *et al.*, 2010); efecto contrario al ocasionado por la aplicación foliar de CTS. La clorofila a es el pigmento primario para la fotosíntesis, y actúa como donador de electrones, en tanto que la clorofila b permite expandir el espectro de absorción de luz, aunque muchas proteínas involucradas en la cosecha de luz se acumulan en cloroplastos en ausencia de clorofila b (Eggink *et al.*, 2001).

CONCLUSIONES

La aplicación de quitosano vía foliar en dosis de 1000 mg L⁻¹, a plantas de fresa cv. Aromas, tiende a reducir las concentraciones de clorofila b y clorofila total en hojas; lo anterior puede ser evidencia de una posible regulación en el proceso de captación de luz bajo condiciones de estrés salino inducido por la adición de 50 mM NaCl a la solución nutritiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Hidayatmayum, P. Dwivedi, D. Katiyar, A. Hemantaranjan, "Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress". *Physiology and Molecular Biology of Plants*, Vol 25, 2, pp. 313–326, 2019, <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0633-1>
2. A. Steiner, "The universal nutrient solution. 6th international congress on soilless culture". Wageningen, The Netherlands. 1984, pp. 633–650.
3. A. Ullah, A. Bano, N. Khan, "Climate change and salinity effects on crops and chemical communication between plants and plant growth-promoting microorganisms under stress", *Frontiers in Sustainable Food Systems*, Vol. 5, 618092, 2021, <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.618092>
4. C. Lu, L. Li, X. Liu, M. Chen, S. Wan, G. Li, "Salt stress inhibits photosynthesis and destroys chloroplast structure by downregulating chloroplast development-related genes in *Robinia pseudoacacia* seedlings", *Plants*, Vol. 12, 1283. 2023. <https://doi.org/10.3390/plants12061283>
5. G. Rodríguez-Bautista, G. Calderón-Zavala, D. Jaen-Contreras, A. Curiel-Rodríguez, "Capacidad de propagación y calidad de planta de variedades mexicanas y extranjeras de fresa". *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Vol. 18, 1, pp. 113–123, 2012.
6. J. Medrano Macías, M. G. López Caltzontzitz, E. N. Rivas Martínez, W. A. Narváez Ortiz, A. Benavides Mendoza, P. Martínez Lagunes, "Enhancement to salt stress tolerance in strawberry plants by iodine products application", *Agronomy*, Vol. 11, 602, 2021, <https://doi.org/10.3390/agronomy11030602>
7. L. L. Eggink, H. Park, & J. K. Hooper. "The role of chlorophyll *b* in photosynthesis: Hypothesis". *BMC Plant Biology*, Vol. 1, 2, 2001. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-1-2M>.
A. Aazami, M. Maleki, F. Rasouli, G. Gohari, "Protective effects of chitosan based salicylic acid nanocomposite (CS-SA NCs) in grape (*Vitis vinifera* cv. 'Sultana') under salinity stress", *Scientific Reports*, Vol. 13, 883, 2023, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27618-z>
8. M. Hasanuzzaman, Fujita M., "Plant responses and tolerance to salt stress: physiological and molecular interventions", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 23, 9, 4810, 2022, <https://doi.org/10.3390/ijms23094810>
9. M. Rahman, J. A. Mukta, A. A. Sabir, D. R. Gupta, M. Mohi-Ud-Din, M. Hasanuzzaman, M. G. Miah, M. Rahman, M. T. Islam, "Chitosan biopolymer promotes yield and stimulates accumulation of antioxidants in strawberry fruit", *PLoS One*, Vol. 13, 9, e0203769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203769>
10. M. Saad Ullah, A. Mahmood, M. M. Javaid, M. Naqve, S. Bibi, Z. U. Abidin, I. u. Haq, S. R. Khan, "Chitosan for plant growth and stress tolerance", In: Hasanuzzaman, M. (eds.) *Climate-Resilient Agriculture*, Vol 2. (2023). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-37428-9_12
11. Ö. Tatar, H. Bruck, M. N. Gevrek, F. Asch, "Physiological response of two Turkish rice (*Oryza sativa* L.) varieties to salinity", *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, Vol. 34, 2010, pp. 1–9.
12. R. Román-Doval, S. P. Torres-Arellanes, A. Y. Tenorio-Barajas, A. Gómez-Sánchez, A. A. Valencia-Lazcano, "Chitosan: Properties and its application in agriculture in context of

- molecular weight", *Polymers*, Vol. 15, 13, 2867, 2023, <https://doi.org/10.3390/polym15132867>
13. SAS Institute Inc, "SAS/STAT Users Guide". Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA. 2011.
 14. S. L. González-Jiménez, A. M. Castillo-González, M. R. García-Mateos, L. A. Valdez-Aguilar, C. Ybarra-Moncada, E. Avitia-García, "Respuesta de fresa cv. Festival a la salinidad", *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 43, 1, pp. 53–60, 2020.
 15. S. V. Isayenkov y F.J.M. Maathuis, "Plant salinity stress: many unanswered questions remain", *Frontiers in Plant Science*, Vol. 10, 2019. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080>

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FENÓLICOS DE HOJAS DE KALE (*BRASSICA OLERACEA* VAR. *SABELLICA*) DURANTE LA DIGESTIÓN GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

Zulma T. Pérez-Hernández¹, Jesús Pérez-Lozada¹, Glorice Serena-Romero², Armando J. Martínez³, César I. Beristain⁴ y Elvia Cruz-Huerta⁴

¹ Maestría en Ciencias Alimentarias, Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

² Doctorado en Ciencias Biomédicas, Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

³ Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México.

⁴ Centro de Investigación y Desarrollo en Alimentos, Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, Enríquez.

Zulpehe97@gmail.com

RESUMEN

El aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles está asociado con cambios en los estilos de vida, así como a factores genéticos y hereditarios. Por ello, muchas investigaciones se centran en la búsqueda de compuestos e ingredientes naturales con capacidad antioxidante para prevenir o mitigar el estrés oxidativo, especialmente aquellos presentes en las plantas. En este contexto, el kale, también conocido como col rizada (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) destaca por su riqueza nutricional y la abundancia de compuestos bioactivos que promueven la salud. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de las hojas de kale durante el proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*. Para ello, las hojas de kale fueron liofilizadas y pulverizadas y se les realizó un análisis proximal siguiendo la metodología de la AOAC. A partir del pulverizado de las hojas de kale, se exploraron varios métodos de extracción utilizando soluciones de etanol/agua y metanol/agua en diferentes proporciones, tanto a temperatura ambiente como a 70°C. Los extractos obtenidos fueron analizados para determinar su contenido de Compuestos Fenólicos Totales (CFT) mediante el método de Folin-Ciocalteu, así como su actividad antioxidante a través de los ensayos ABTS y DPPH. El análisis proximal del pulverizado de las hojas de kale reveló una composición de humedad de 1.77 g/100g, cenizas 1.70 g/100 g, proteína total 7.80 g/100 g y carbohidratos 73.18 g/100g. Entre los métodos de extracción evaluados, el que utilizó una solución de etanol/agua 70:30 v/v a 70°C durante 10 minutos resultó ser el más eficaz, mostrando la mayor concentración de CFT (286.77 µg EAG/g a 1 mg/mL) y la actividad antioxidante más alta, según los ensayos ABTS (89.71 ± 0.70 %) y DPPH (84.40 ± 0.39 %). El extracto seleccionado fue liofilizado y sometido a una digestión gastrointestinal *in vitro*, empleando el protocolo armonizado de INFOGEST. Posteriormente se evaluó su actividad antioxidante durante las fases oral, gástrica e intestinal del proceso de la digestión simulada. Los resultados indicaron que la fase intestinal exhibió la mayor actividad antioxidante en los ensayos de ABTS y DPPH (IC₅₀ = 168.36 ± 12.52 y 254.85 ± 11.97 µg/mL respectivamente). Esto indica que la digestión gastrointestinal *in vitro* mejora la disponibilidad y eficacia de los compuestos antioxidantes en las hojas de kale. Por lo tanto, el consumo de kale, podría ser una estrategia eficaz para prevenir y/o tratar alteraciones asociadas con el estrés oxidativo.

INTRODUCCIÓN

El tracto gastrointestinal está continuamente expuesto al ataque oxidativo por altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno (ROS) presentes en el contenido luminal como consecuencia de ciertos compuestos prooxidantes procedentes de la dieta, fármacos o toxinas, así como de aquellas especies reactivas generadas endógenamente en el metabolismo del organismo (Zhu & Li, 2012). El estrés oxidativo es uno de los factores más críticos implicados en la aparición y progresión de varias patologías digestivas, como las enfermedades inflamatorias, las disfunciones hepáticas y el cáncer colorrectal (Alzoghaibi, 2013). Desde una perspectiva epidemiológica, se ha observado que el consumo de alimentos de origen vegetal se asocia a la prevención del estrés oxidativo y a un menor riesgo de padecer enfermedades crónicas como hipertensión, diabetes o cáncer. En este sentido,

las hojas de kale son una rica fuente de compuestos bioactivos, como fenoles, glucosinolatos e isotiocianatos, que se han asociado con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas (Lučić et al., 2023). Estas propiedades pueden desempeñar un papel clave en la protección contra el daño oxidativo y la inflamación, factores que contribuyen al desarrollo de enfermedades crónicas como las cardiovasculares, la diabetes y el cáncer.

A pesar de la alta popularidad y consumo de las hojas de kale, aún es necesario realizar más investigación científica sobre sus compuestos bioactivos y su efecto en la salud. En este sentido, es de gran importancia investigar la actividad antioxidante de los productos resultantes de la digestión gastrointestinal de las hojas de kale. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de las hojas de kale durante el proceso de digestión gastrointestinal in vitro.

TEORÍA

Estudios epidemiológicos indican que entre el 5 y el 10% de los casos de cáncer están relacionados con factores genéticos, mientras que el 90 y el 95% se atribuyen a agentes ambientales externos y al estilo de vida, incluido el tipo de dieta (Anand et al., 2008). Se estima que uno de los medios más efectivos para prevenir o reducir el riesgo de padecer cáncer está directamente relacionado con adoptar una dieta saludable que incluya alimentos de origen vegetal (González-Montoya et al., 2018). Debido a ello, en las últimas décadas hay un creciente interés por estudiar los alimentos con potencial efecto antioxidante y anticancerígeno (Stoffel y Murphy, 2020).

Las Brassicas, o crucíferas, son una familia de hortalizas y plantas originarias de Europa Occidental y las regiones mediterráneas. Brassica oleracea es una de las especies más importantes de esta familia, siendo una de las más consumidas y conocidas en el mundo. Dentro de esta especie, encontramos una gran variedad de hortalizas, entre las que destacan el brócoli, la coliflor y diferentes tipos de coles, como la col rizada.

Kale

El kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) es un tipo de col rizada con hojas de color verde oscuro, es originaria de la región mediterránea y se cultiva desde hace siglos en diversas partes del mundo y puede soportar temperaturas inferiores a 0 °C gracias a su tolerancia a las heladas. Su tiempo de cosecha es de entre 12 y 16 semanas. En 2021 México registró una producción de 6,023.28 toneladas, siendo Baja California, Sonora, Guanajuato y Aguascalientes los principales estados productores (SIAP, 2021). El kale destaca por sus propiedades y beneficios para la salud, atribuidos principalmente a su contenido de fitoquímicos y compuestos bioactivos (Favela-González et al., 2020). Entre estos, los polifenoles y glucosinolatos son reconocidos por sus efectos antioxidantes y anticancerígenos (Hahn et al., 2016). Además, el kale es una fuente abundante de carotenoides, como betacaroteno, luteína, violaxantina, neoxantina y betacriptoxantina, que contribuyen a sus propiedades saludables (Kaulmann et al., 2014). El kale también es rico en proteínas, vitaminas como la C, K, A y complejo B, así como minerales como calcio, hierro, magnesio y potasio (Lučić et al., 2023).

Los compuestos fenólicos y su actividad antioxidante

Los compuestos fenólicos son fitoquímicos que las plantas producen como metabolitos secundarios y pueden clasificarse según su origen, función biológica o estructura química. La clasificación estructural agrupa los compuestos fenólicos en varias clases en función del número de anillos y sustituyentes. Algunos de los principales compuestos fenólicos de la dieta son los flavonoides, los ácidos fenólicos, los alcoholes fenólicos, los estilbenos y los lignanos. Se ha demostrado que el consumo de compuestos fenólicos tiene efectos benéficos para la salud, ya que pueden proteger contra enfermedades como la diabetes y el cáncer (Cory et al., 2018). Los compuestos fenólicos pueden ralentizar o prevenir la oxidación de otras moléculas, como el ADN, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las membranas biológicas. Su acción antioxidante se debe a su capacidad para

neutralizar radicales libres como especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, quelar metales y estimular sistemas de defensa endógenos como enzimas antioxidantes/detoxificantes y factores de transcripción. La eficacia antioxidante de los polifenoles depende de su estructura química, siendo los flavonoides considerados los antioxidantes más potentes dentro de este grupo (Lučić et al., 2023).

En las plantas brasicáceas, como el kale se encuentran varios tipos de compuestos fenólicos, incluyendo taninos, ácidos fenólicos, antocianidinas, antocianinas, flavonoles, cumarinas y flavonas. En particular, se ha descrito que, en las hojas de kale, los compuestos fenólicos más abundantes son el kaempferol y la quercetina, que presentan actividad antioxidante y poseen efecto antiinflamatorio (Lučić et al., 2023). Estos compuestos son esenciales para prevenir la inflamación crónica y el estrés oxidativo celular. Estudios previos han determinado el contenido de compuestos fenólicos en extractos etanólicos de hojas de kale (*Brassica oleraceae* var. *sabellica*); por ejemplo, Kaulmann et al. (2014) informaron de una concentración de fenoles totales de 60 mg GAE/100 g, flavonoides totales de 50 mg/100 g y una actividad antioxidante por ABTS de 381 mg/100 g y por FRAP de 953 mg/100 g (Kaulmann et al., 2014). Sin embargo, la información sobre los productos de estos compuestos durante la digestión de las hojas de kale es limitada. Por lo tanto, se debe considerar para establecer una relación con sus efectos sobre la salud. Para ello, se ha utilizado la digestión in vitro como herramienta alternativa previa al uso de modelos animales y ensayos clínicos (Ye et al., 2023).

PARTE EXPERIMENTAL

Caracterización de las hojas de kale

A las hojas de kale, se les determinaron los siguientes parámetros: humedad (AOAC, 9250,10); cenizas (AOAC, 938,03); proteína total por el método Kjeldahl (AOAC, 928,08); lípidos totales por Soxhlet (AOAC, 960,39); fibra total (AOAC, 985,29); y carbohidratos, que se calcularán con la fórmula: % hidratos de carbono = 100 - (% humedad + % proteína + % grasa +% sólidos solubles +% fibra total).

Obtención del pulverizado de las hojas de kale

Las hojas de kale se liofilizaron y pulverizaron utilizando un molino pulverizador (ENCAMEX, MC-100, CDMX, México). Después se tamizaron a través de un tamiz de 500 µm y se almacenaron al vacío a -80 °C hasta su uso.

Optimización del proceso de extracción de compuestos fenólicos en las hojas de kale

Se realizaron varias extracciones de compuestos fenólicos en las hojas de kale liofilizadas y pulverizadas, utilizando una dilución: 1:25 (p/v) en metanol/agua (80:20 v/v) agitada a 400 rpm durante 24 horas a temperatura ambiente. Para optimizar aún más el tiempo de extracción, se aplicó una metodología más reciente descrita por Ortega-Hernández et al. (2023), utilizando una dilución de 1:50 (p/v) en soluciones de metanol/agua (70:30 v/v) y etanol/agua (70:30 v/v), agitadas a 70°C y 400 rpm durante 10 minutos (Figura 1). Todas las muestras fueron centrifugadas a 18,000 g durante 10 minutos, se filtraron y rotaevaporaron para eliminar el solvente. Finalmente, a todos los extractos se les evaluó el contenido de compuestos fenólicos totales utilizando el método de Folin-Ciocalteu y actividad antioxidante utilizando los métodos ABTS y DPPH.

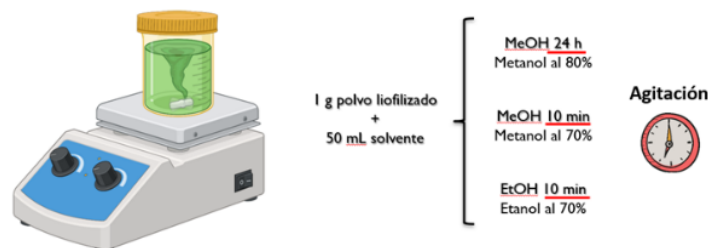


Figura 1. Extracción de compuestos fenólicos en hojas de kale.

Digestión gastrointestinal *in vitro* de hojas de kale

Las hojas de kale fueron digeridas de acuerdo con el protocolo de digestión gastrointestinal *in vitro* de INFOGEST (Brodkorb *et al.*, 2019) que incluye las fases: oral, gástrica e intestinal (Figura 2). Las enzimas y reactivos que se utilizaron en el proceso de la digestión gastrointestinal *in vitro* se adquirieron de Merck, Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). La fase oral comprende la dilución del alimento en una proporción 1:1 (p/v) con fluido salival simulado (SSF) y se ajustó el pH a 7 con NaOH, se añadió la enzima α -amilasa salival humana (75 U/mL) y CaCl_2 . La mezcla se incubó a 37 °C con agitación a 150 rpm y pH 7 durante 2 minutos. En la fase gástrica el bolo oral se mezcló con fluido gástrico simulado (SGF) en una proporción (1:1, v/v), se agregó CaCl_2 y se ajustó a pH 3 con HCl, se agregó la pepsina y se incubó a 37 °C con agitación a 150 rpm y pH 3 durante 2 horas. Finalmente, el quimo gástrico se diluyó en una proporción 1:1 (v/v) con fluido intestinal simulado (FIS), se ajustó a pH 7 con NaOH, se mezcló con pancreatina y bilis porcina. Se incubó a 37 °C con agitación a 150 rpm durante 120 minutos. La reacción enzimática fue inactivada con Pefabloc® SC. Los digeridos fueron centrifugados a 5,000 g y 4 °C durante 30 minutos, se liofilizaron y almacenaron a -80 °C hasta su uso.

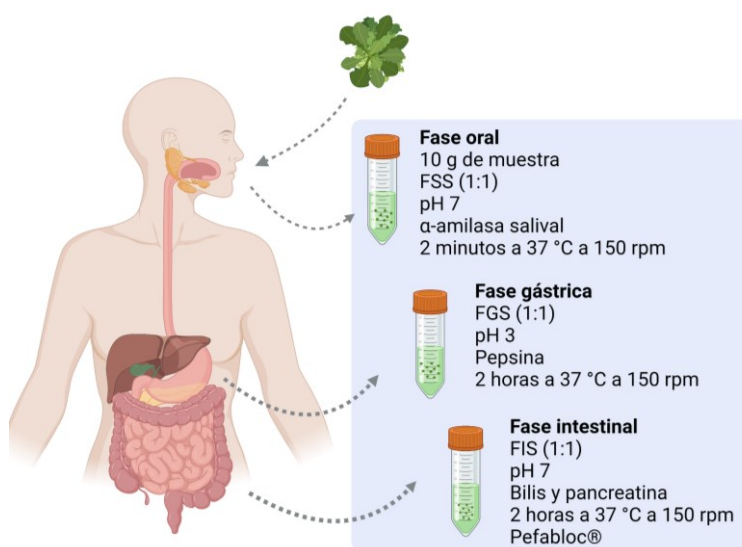


Figura 2. Esquema representativo de las fases de la digestión *in vitro*.

Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales

El análisis de los compuestos fenólicos totales se realizó por el método de Folin-Ciocalteu según el protocolo descrito por Espinosa Leal *et al.* (2015). Se preparó una curva patrón de ácido gálico a 1000 ppm a partir de 10 mg de ácido gálico en 10 mL de agua destilada. Después, se añadieron 20 μL de la muestra en diluciones con diferentes concentraciones a una placa de 96 pocillos, se añadieron 100 μL de reactivo Folin-Ciocalteu 1 N y se dejó reposar durante 5 minutos. Se añadieron 80 μL de una solución de carbonato sódico al 7.5%. Se incubó a 37 °C durante 90 minutos y se leyó a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro de placa (Multiskan GO Thermo Scientific, Vantaa, Finlandia).

Determinación de la actividad antioxidante por ABTS

El ensayo de actividad de eliminación de radicales 2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS) se realizó de acuerdo con el método descrito por Re *et al.* (1999), con algunas modificaciones. Se utilizaron 2 mg de Trolox diluidos en 10 mL de PBS para la realización de una curva estándar a 800 μM . El radical monocation $\text{ABTS}^{+\bullet}$ se obtuvo tras disolverlo en una solución de

persulfato potásico 2,45 mM hasta una concentración final de 7 mM. Se dejó reposar en la oscuridad y a temperatura ambiente entre 12 y 16 horas antes de su utilización. A continuación, se diluyó con PBS hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre 0,650 y 0,750 a 734 nm. Los resultados obtenidos se expresaron como % de inhibición del radical.

Determinación de la actividad antioxidante por DPPH

El estudio evaluó la capacidad de las muestras para eliminar los radicales 2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato DPPH utilizando un método modificado para microplacas de 96 pocillos de acuerdo con el protocolo descrito por Brand-Williams (1995) con algunas modificaciones. Se preparó una curva estándar de Trolox a partir de 2 mg en 10 mL de metanol al 80%. Se disolvieron 3,9 mg del radical DPPH en 100 mL de metanol al 80%. En la placa de 96 pocillos, se agregaron 150 μ L de la muestra en diferentes concentraciones y 150 μ L de DPPH. Después de una incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro de placa (Multiskan GO Thermo Scientific, Vantaa, Finlandia). Los resultados obtenidos se expresaron como % de inhibición del radical.

RESULTADOS

Composición proximal de hojas de kale

La composición proximal de las hojas de kale se presenta en la Tabla 1. En las hojas frescas el contenido de humedad fue de 86.77%, lo que es consistente con los valores obtenidos por Reyes-Munguía et al. (2017), quienes encontraron un 88.9% en las hojas frescas de kale de la misma variedad. Por otro lado, las hojas pulverizadas exhibieron un valor de humedad de 1.04 ± 0.43 g/100 g y de cenizas 1.70 ± 0.05 g/100 g valores diferentes con lo reportado por Agarwal et al. (2017) que informaron un contenido de humedad de 9.08 ± 0.06 g/100 g y de cenizas 4.34 ± 0.07 g/100 g. Sin embargo, otros autores como Cartea et al. (2011) han encontrado valores de cenizas de 1.53 g/100 g. En cuanto al contenido de proteínas, se registró un valor de 8.05 ± 0.66 g/100 g, que fue superior al informado por Agarwal et al. (2017) que indicaron un contenido proteico en las hojas de kale de 5.12 ± 0.43 g/100 g. Estas discrepancias en la composición fisicoquímica de las hojas de kale podrían deberse a diferentes factores como el tipo de cultivo, manejo agronómico, condiciones del suelo, clima, entre otros.

Tabla 1. Análisis de la composición proximal de hojas de kale

Análisis	g/ 100g
Humedad	1.04 ± 0.43
Proteína	8.05 ± 0.66
Lípidos	7.50 ± 0.98
Cenizas	1.70 ± 0.05
Fibra	7.80 ± 0.02
Carbohidratos	73.91

Se muestran los valores promedio ($\pm$ desviación estándar).

Optimización del proceso de extracción de las hojas de kale

Compuestos Fenólicos Totales

La evaluación del contenido de compuestos fenólicos totales de los diferentes extractos se expresó en microgramos de equivalente de ácido gálico por gramo de extracto (μ g EAG/g). Como se muestra en la Figura 3, los extractos de EtOH de 10 minutos y MetOH de 24 horas presentaron los mayores contenidos de compuestos fenólicos, con valores de 287 μ g EAG g^{-1} y 222 μ g EAG g^{-1} respectivamente. Estos resultados fueron inferiores a los reportados por Ortega-Hernández et al. (2023) que encontraron 314 μ g EAG/g en brotes de kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*), lo cual puede atribuirse a diferentes factores como la madurez de las plantas, las condiciones climáticas y de cultivo.

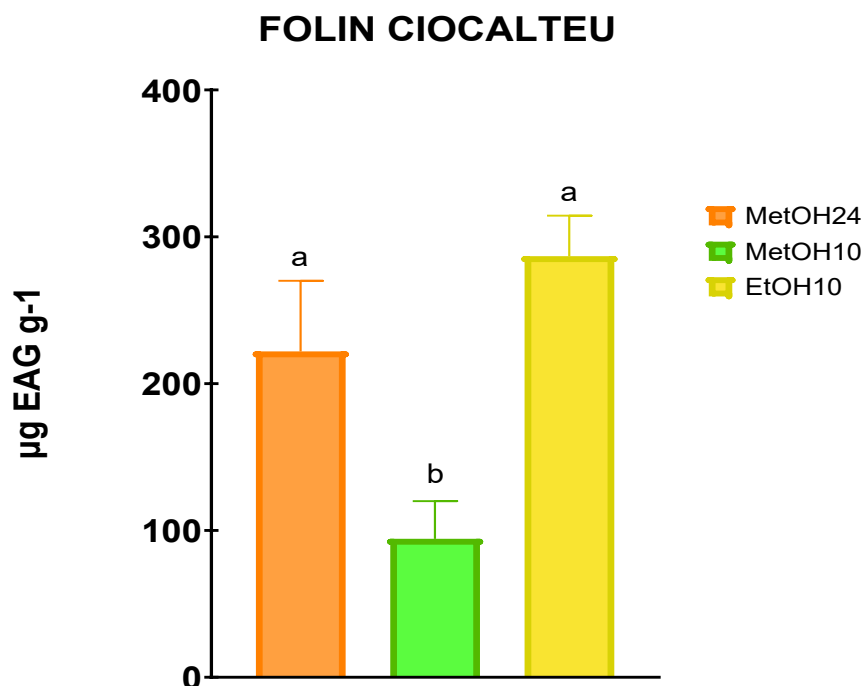


Figura 3. Contenido de compuestos fenólicos totales expresados como valor promedio ($\pm$ desviación estándar) en extractos de metanol 24 horas (MetOH24), metanol 10 minutos (MetOH10) y etanol 10 minutos (EtOH10). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0.05$).

Actividad antioxidante por ABTS

La actividad antioxidante de los diferentes extractos fue evaluada mediante el ensayo ABTS y expresada como porcentaje de inhibición. En la Figura 3, se observa que los extractos obtenidos con metanol durante 24 horas (MeOH 24 h) y 10 minutos (MeOH 10) mostraron los mayores porcentajes de inhibición, ambos extractos alcanzaron el 91% de inhibición, seguidos de los extractos EtOH 10 min, que mostraron una inhibición del 90% del radical ABTS. Estos resultados son superiores a los reportados por Rokayya et al. (2013), quienes obtuvieron una inhibición del 85% en hojas de kale (*Brassica oleracea* var. *capitata*).

Actividad antioxidante por DPPH

En el ensayo de actividad antioxidante mediante DPPH, el extracto que mostró el mayor porcentaje de inhibición de los radicales DPPH fue el de MetOH 24 h, alcanzando un 86% de inhibición (Figura 4). No se observó una diferencia estadística significativa entre este extracto y el extracto de EtOH 10 min, que presentó un porcentaje de inhibición del 84%. Estos resultados son superiores a los descritos por Rosas-Trejo (2017), quien obtuvo una inhibición del 79% en un extracto acuoso de hojas de kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*), y por Mohammed Fazil (2012), quien reportó un 76% de inhibición con un extracto etanólico de hojas de kale (*Brassica oleracea* var. *capitata*).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se eligió el extracto EtOH 10 debido a su mayor contenido de compuestos fenólicos totales y su alta inhibición de los radicales ABTS y DPPH, que fue estadísticamente similar a la de los extractos de MetOH 24 h, pero con un tiempo de extracción menor. Para explorar la eficacia de los compuestos bioactivos durante la digestión, se llevó a cabo una digestión gastrointestinal in vitro del extracto seleccionado de hojas de kale, empleando el protocolo armonizado INFOGEST. Posteriormente, se evaluó la actividad antioxidante del extracto y de sus productos digeridos utilizando los ensayos ABTS y DPPH.

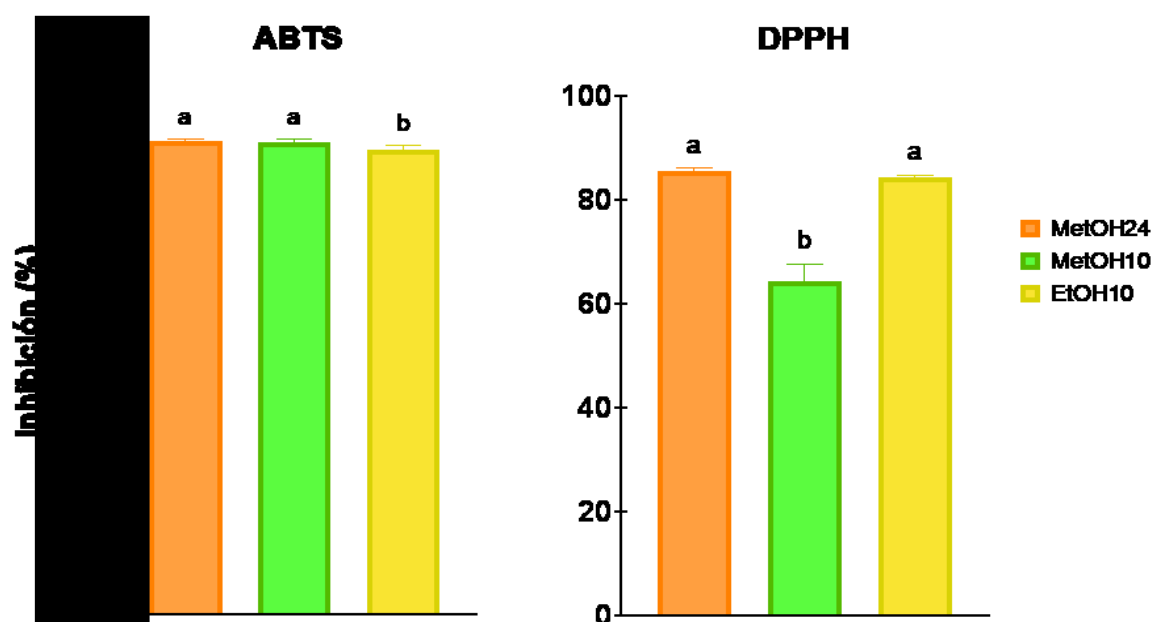


Figura 4. Porcentaje de inhibición de los radicales ABTS y DPPH en extractos de metanol 24 horas (MetOH24), metanol 10 minutos (MetOH10) y etanol 10 minutos (EtOH10) de hojas de kale. Valores promedio ($\pm$ desviación estándar). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0.05$).

Actividad antioxidante del extracto de hojas de kale durante la digestión *in vitro*

Actividad antioxidante por ABTS en digeridos

La actividad antioxidante por el radical ABTS no presentó diferencias estadísticas entre el extracto y las diferentes fases de la digestión gastrointestinal *in vitro*, obteniendo valores de 93.03 ± 0.69 % de inhibición para el extracto, 94.35 ± 0.59 % para la fase oral, 94.16 ± 0.90 % para la fase gástrica y 94.04 ± 0.47 % para la fase intestinal (Figura 5). Sin embargo, esto es mayor a lo reportado por Šola, *et al.* (2020), quienes reportaron 19.58 ± 3.6 % de inhibición en la fase oral, 19.10 ± 2.00 % para la fase gástrica y 12.89 ± 2.10 % en la fase intestinal de extractos acuoso de col china (*Brassica Rapa* ssp. *Pekinensis*). Esta diferencia en los porcentajes de inhibición del radical ABTS puede deberse a la variedad empleada, a las técnicas de cultivo, a las condiciones climáticas, así como a la metodología llevada a cabo para la determinación de la bioaccesibilidad mediante digestión gastrointestinal *in vitro* el cual es un factor importante por considerar, debido a que las condiciones y enzimas utilizadas son un determinante en los resultados obtenidos y la diferencia entre ellos.

Actividad antioxidante por DPPH en digeridos

La determinación de la actividad antioxidante por DPPH fue expresada como porcentaje de inhibición. En la Figura 5, se observa que la mayor actividad antioxidante se presentó en los digeridos intestinales (88.09 ± 0.76 %), mientras que la menor actividad fue en el extracto sin digestión 84.40 ± 0.39 %. Los digeridos orales y gástricos presentaron valores de 84.65 ± 0.59 % y 88.09 ± 0.76 % respectivamente. Esto varía de acuerdo con lo reportado por Radünz, *et al.* (2021), quienes obtuvieron un 75.5% de inhibición en hojas de *Brassica oleracea* L. var. *Itálica* sin digerir, sin embargo, en sus digeridos los resultados son similares, a excepción de la fase oral en donde no detectaron inhibición del radical de ABTS, sin embargo, en la fase gástrica e intestinal obtuvieron valores de 80.8 % y 90.2 % de inhibición respectivamente.

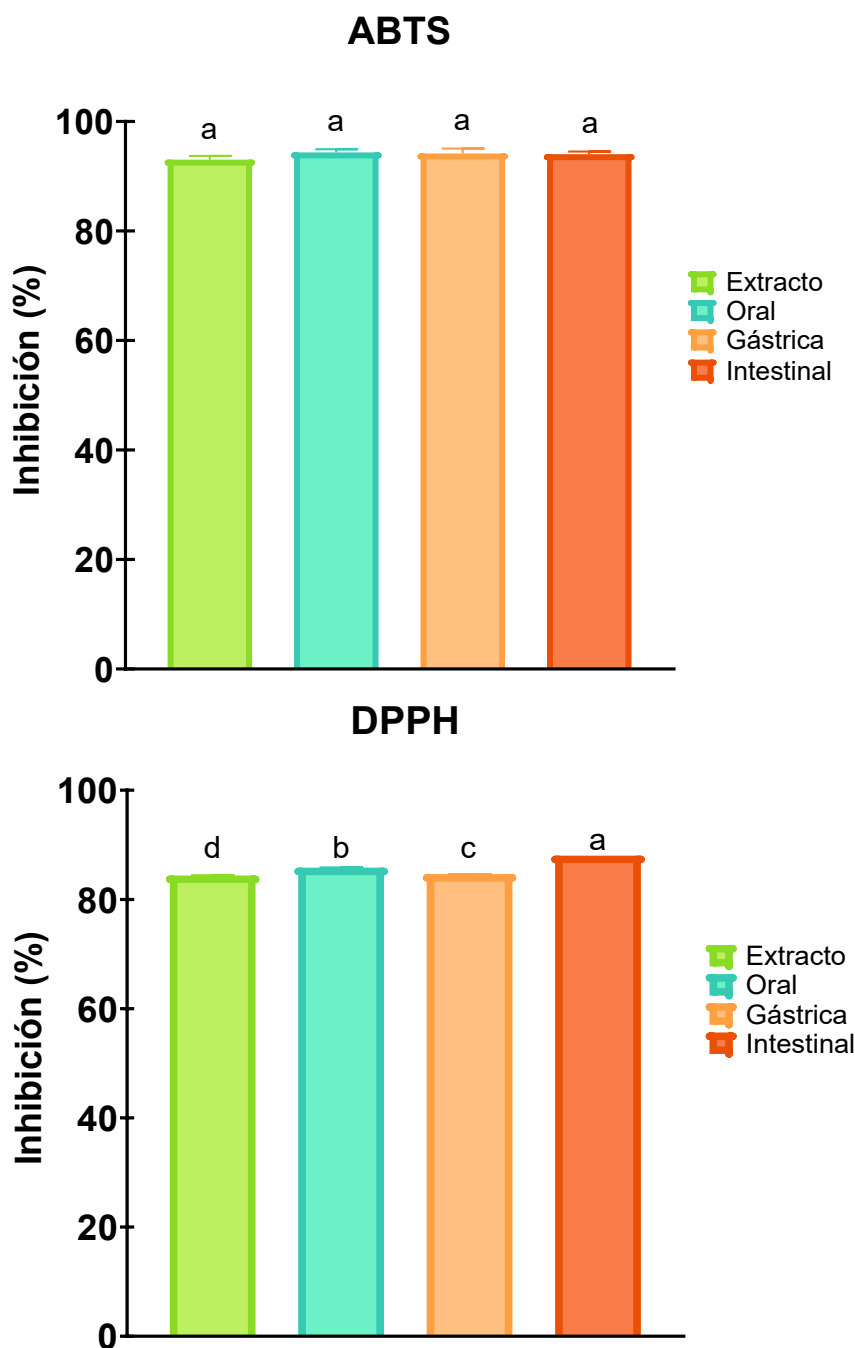


Figura 5. Porcentaje de inhibición del radical ABTS y DPPH en extracto y digeridos de hojas de kale. Valores promedio ($\pm$ error estándar). Las letras diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

La digestión gastrointestinal *in vitro* favorece la liberación de compuestos fenólicos en hojas de kale, dando como resultado un aumento en la actividad antioxidante por el método de DPPH y manteniéndola por ABTS. Por lo tanto, el consumo de hojas de kale puede prevenir el desarrollo de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agarwal A., Raj N., Chaturvedi N. (2017) Estudio comparative de la actividad proximal y antioxidante de hojas de *Brassica Oleracea* (col rizada) y *Spinacea Oleracea* (espinaca). <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.04.004>
2. Alzoghaibi MA. Conceptos de estrés oxidativo y defensa antioxidante en la enfermedad de Crohn. *Mundo J Gastroenterol* 2013; 19(39): 6540-6547 [PMID: 24151379 DOI: 10.3748/wjg.v19.i39.6540]
3. Anand, P., Kunnumakara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Tharakan, S. T., Lai, O. S., & Aggarwal, B. B. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical research*, 25, 2097-2116.
4. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
5. Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
6. Cartea, M.E., Lema, M., Francisco, M., Velasco, P. (2011) Basic information on vegetable Brassica crops. *Genet. Genomics Breed. Veg. Brassica* 1-33. <https://doi.org/doi:10.1201/b10880-2/r10.1201/b10880-2>
7. Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: A mini-review. *Frontiers in nutrition*, 5, 87.
8. Favela-González, KM, Hernández-Almanza, AY, & De la Fuente-Salcido, NM (2020). El valor de los compuestos bioactivos de vegetales crucíferos (Brassica) como antimicrobianos y antioxidantes: una revisión. *Revista de bioquímica a limentaria*, 44 (10), e13414.
10. Gimeno Creus, Eva. (2004) Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios a la salud. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>
11. González-Montoya, M., B., Hernández-Ledesma, J.M., Silván, R., Mora-Escobedo, C. Martínez-Villaluenga, A. (2018). Peptides derived from in vitro gastrointestinal digestion of germinated soybean proteins inhibit human colon cancer cells proliferation and inflammation. *Food Chem.*, 242, 75-82.
12. Mohammed Fazil Ahmed, Srinivasa, Shaik Rasheed Ahemad and Mohammed Ibrahim. (2012) Phytochemical studies and antioxidant activities of Brassica Oleracea L. var. Capitata. In *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* (Vol. 4).
13. Ortega-Hernández, E., Acevedo-Pacheco, L., Jacobo-Velázquez, D. A., & Antunes-Ricardo, M. (2023). Bioaccessibility and Potential Biological Activities of Lutein, Glucosinolates, and Phenolic Compounds Accumulated in Kale Sprouts Treated with Selenium, Sulfur, and Methyl Jasmonate. *ACS Food Science & Technology*, 3(3), 404-413. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsfoodscitech.2c00285>
14. Radünz M., Mota-Camargo T., Blank J., Hoffmann J., Moro-Stefanello F., Rosa-Zavareze E. Encapsulación de extracto de brócoli por electropulverización: Influencia de la digestión simulada in vitro sobre el contenido fenólico y glucosinolato, y sobre las actividades antioxidantes y antihiperlipidémicas. *Marzo*, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128075>
15. Re R., Pellegrini Ni., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*; 26: 1231-1237.
16. Reyes-Munguía A., Rosas-Trejo L., Campos-Montiel R., Quintero-Lira A., Carrillo-Inungaray M. (2017) Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de *Brassica Oleracea* var. *Sabellica*. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, Vol. 3, No. 8, páginas 30-34.
17. Rokayya Sami, Li Chun-Juan Li, Yan Zhao, Ying Li, Chang-Hao Sun. (2014) Cabbage (Brassica oleracea L. var. capitata) Phytochemicals with Antioxidant and Anti-inflammatory

- Potential. In Asian Pacific Journal of Cancer Prevention (Vol. 14). <https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.11.6657>
18. Rosas Trejo Lizeth, Campos Montiel Rafael G., Quintero Lira Aurora y Carrillo Inungaray María Luisa. (2017) Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de Brassica oleracea var. Sabellica. En Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales (Vol.3).
 19. Stoffel, E. M. y Murphy, C. C. (2020). Epidemiology and Mechanisms of the Increasing Incidence of Colon and Rectal Cancers in Young Adults. *Gastroenterology*, 158, 341-353. 27
 20. Lučić, D., Pavlović, I., Brkljačić, L., Bogdanović, S., Farkaš, V., Cedilak, A., Nanić, L., et al. (2023). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Kale (*Brassica oleracea* L. Var. *acephala* DC.) and Wild Cabbage (*Brassica incana* Ten.) Polyphenolic Extracts. *Molecules*, 28(4), 1840.
 21. Serra Valdés, Miguel, Serra Ruíz, Melissa, & Viera García, Marleny. (2018). Las enfermedades crónicas no transmisibles: magnitud actual y tendencias futuras. *Revista Finlay*, 8(2), 140-148. Recuperado en 06 de junio de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342018000200008&lng=es&tlng=es.
 22. Šola I., Vujčić Bok V., Pinterić M., Auer S., Ludwig-Müller J., Rusak G. Improving the phytochemical profile and bioactivity of Chinese cabbage sprouts by interspecific transfer of metabolites, *Food Research International*, Volume 137, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109726>.

EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO DE NANOPARTÍCULAS DE ZIRCONIA EN EL PROCESO OSTEOGÉNICO

Ricardo Saúl Legorreta Álvarez, Marco Aurelio Pardo Galván, Ana Edith Higareda Mendoza

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

higareda@umich.mx.

RESUMEN

Las fracturas óseas representan un grave problema de salud a nivel mundial, con millones de casos anuales y un gran impacto económico y social. La ingeniería de tejidos es un campo prometedor para desarrollar soluciones terapéuticas para la regeneración ósea. Esta disciplina busca crear implantes biomiméticos utilizando tres componentes clave: células, andamios y moléculas bioactivas. Las nanopartículas de zirconia (ZrO_2) han demostrado propiedades únicas que las hacen atractivas para aplicaciones biomédicas. Desde 1969, el óxido de zirconio se utiliza en prótesis articulares como alternativa al titanio, acero o aluminio. En odontología, el ZrO_2 se ha confirmado como un material excelente para prótesis dentales gracias a sus elevadas propiedades mecánicas y alta biocompatibilidad con los tejidos orales. Este estudio investiga el potencial de las nanopartículas de zirconia para promover la regeneración ósea en el contexto de la ingeniería de tejidos. Se evaluó la capacidad de las nanopartículas de ZrO_2 para mejorar la osteogénesis de osteoblastos en films con diferentes concentraciones de ZrO_2 . Los resultados de este trabajo contribuirán al desarrollo de implantes óseos avanzados que aceleren la regeneración del tejido óseo dañado.

INTRODUCCIÓN

Las fracturas óseas representan un importante problema de salud a nivel mundial, con millones de casos cada año. Según la Fundación Internacional de Osteoporosis, cada 3 segundos se presenta una fractura por osteoporosis en el mundo. Esta afección tiene un gran impacto en la economía y la dinámica familiar, ya que el 33% de los afectados se vuelve totalmente dependiente de sus familiares o cuidadores (Amgen, 2021). En América Latina, la prevalencia de fracturas por fragilidad aumenta exponencialmente con la edad, y más de la mitad de las fracturas por fragilidad suceden en individuos con masa ósea baja.

La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario que aplica principios de ingeniería y de las ciencias de la vida para desarrollar sustitutos biológicos que restauran, mantienen o mejoran la función de los tejidos (Baino *et al.*, 2015). Esta disciplina busca desarrollar implantes biomiméticos para reparar huesos y dirigir su regeneración hasta recuperar su función. Los tres componentes básicos de la ingeniería de tejidos son las células, los andamios y las moléculas bioactivas, que se conocen colectivamente como la tríada de ingeniería de tejidos (Murphy *et al.*, 2013). Las células son los componentes fundamentales del tejido, y los tejidos son la unidad básica de la función en el cuerpo. Generalmente, grupos de células forman y secretan sus propias estructuras de soporte, llamadas matriz extracelular. Esta matriz, o andamio, hace más que sólo servir como soporte para las células; también actúa como una estación repetidora para varias moléculas de señalización. Por consiguiente, las células reciben mensajes de muchas fuentes que se vuelven disponibles desde el entorno local. En la ingeniería de tejidos óseos se busca implementar terapias que ayuden a la creación de implantes que sean biomiméticos para la regeneración de los tejidos hasta recuperar su funcionalidad (Flores-Macías, 2017). Según Concepto S.r.l. (2024), las nanopartículas de zirconia se utilizan en prótesis metálicas y dentales debido a sus propiedades únicas. El óxido de zirconio (ZrO_2) ha sido utilizado en medicina desde 1969, particularmente en prótesis de articulación de cadera, como una alternativa al titanio, acero o aluminio. En odontología, el óxido de zirconio se ha confirmado como el material de excelencia para la fabricación de prótesis dental, gracias a sus elevadas propiedades mecánicas y alta compatibilidad biológica con el tejido de las encías y el hueso.

TEORÍA

El hueso es un tejido conjuntivo cuya matriz se endurece por el depósito de fosfato de calcio y otros minerales. El proceso de endurecimiento se llama mineralización o calcificación. El hueso no es la sustancia más dura del cuerpo, sino el esmalte dental. El tejido óseo es sólo uno de los tejidos que forman los huesos. Además de la grasa, los nervios y el tejido conjuntivo fibroso, están presentes la sangre, la médula ósea y el cartílago. La palabra hueso describe un órgano compuesto de todos los tejidos, o puede sólo referirse al tejido óseo (Saladin, 2012).

Las lesiones óseas interrumpen la función de las células óseas, lo que afecta la masa y la estructura ósea, que a su vez afectan a las propiedades biomecánicas del hueso, lo que representa una mayor probabilidad de traumatismo, deformidad y/o cáncer. Estas lesiones tienen gran repercusión y traumatología en la cirugía ortopédica. Los trastornos esqueléticos más comunes son: enfermedad de Paget, osteogénesis imperfecta, osteopenia, osteoesclerosis, hipofosfatasia y osteoporosis (Oheim, 2015).

Osteitis deformante (enfermedad de Paget ³⁷)	Proliferación excesiva de osteoclastos y resorción de exceso de hueso, mientras los osteoblastos tratan de compensar mediante el depósito de hueso adicional. Esto lleva a una remodelación rápida y desordenada y a huesos débiles y deformados. La osteitis deformante suele pasar inadvertida, pero en algunos casos provoca dolor, desfiguración y fracturas. Es más común en hombres mayores de 50 años de edad
Osteomielitis ³⁸	Inflamación del tejido óseo y la médula como resultado de infección bacteriana. Esta enfermedad solía ser letal antes del descubrimiento de los antibióticos y aún es muy difícil de tratar
Osteogénesis imperfecta	Defecto en el depósito de colágeno que lleva a huesos demasiado frágiles, lo que produce fracturas presentes al nacer o que ocurren con extraordinaria frecuencia durante la infancia; también causa deformación dental y pérdida de la audición debido a la deformación de los huesos de oído medio
Osteosarcoma ³⁹	La forma de cáncer de huesos más común y fatal; crea metástasis en los pulmones y otros órganos; si se deja sin tratar, la muerte ocurre antes de 1 año

Ilustración 1 Lesiones Óseas.

En México, se estima que más de 10 millones de personas padecen osteoporosis, y cada año se presentan más de 1,406,000 fracturas, lo que representa el 15.7% de todas las fracturas reportadas en el mundo (Gasca *et al.*, 2017). Según la revista Medlineplus (2024), las fracturas en general ocurren debido a accidentes automovilísticos, caídas o lesiones deportivas, pero también pueden ser causadas por la pérdida de masa ósea. La osteoporosis es una enfermedad crónica que provoca que los huesos se tornen porosos y frágiles, aumentando el riesgo de sufrir una fractura. En México, la osteoporosis afecta a 1 de cada 3 mujeres y 1 de cada 5 hombres mayores de 50 años. Es importante diagnosticar y tratar adecuadamente la osteoporosis para prevenir fracturas y mejorar la calidad de vida de los pacientes (Amgen, 2021).

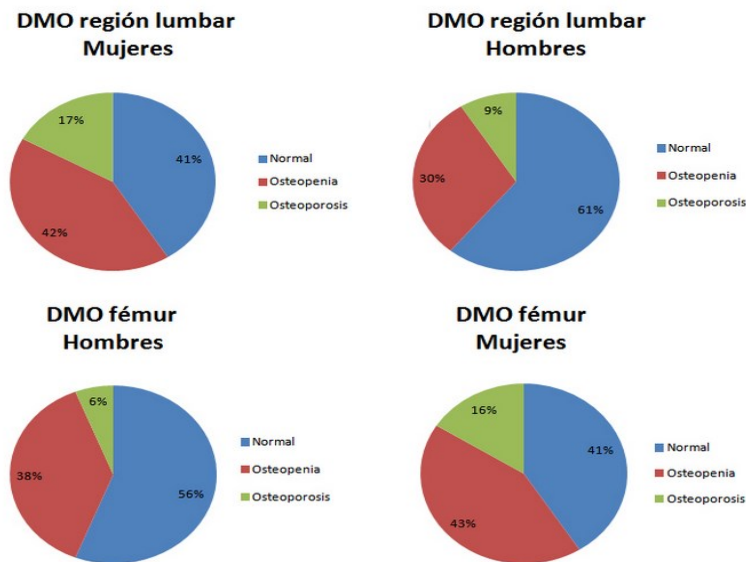


Ilustración 2 Porcentaje de fracturas óseas en Latinoamérica.

Actualmente, la ingeniería de tejidos juega un papel relativamente pequeño en el tratamiento de pacientes. Se han implantado en pacientes vejigas suplementarias, pequeñas arterias, injertos de piel, cartílago y hasta una tráquea completa, pero los procedimientos son todavía experimentales y muy costosos. Aunque tejidos de órganos más complejos como el corazón, pulmón e hígado se han recreado con éxito en el laboratorio, todavía falta mucho para que sean totalmente reproducibles y estén listos para ser implantados en un paciente (NIBIB, 2024).

En la ingeniería de tejidos óseos se busca implementar terapias que ayuden a la creación de implantes que sean biomiméticos y que estimulen la regeneración de los tejidos hasta recuperar su funcionalidad. Un componente clave en la estrategia de síntesis de implantes óseos es la aplicación de células, andamios y moléculas bioactivas que se conocen como triada de los tejidos (Flores-Macías, 2017; Murphy *et al.*, 2013).

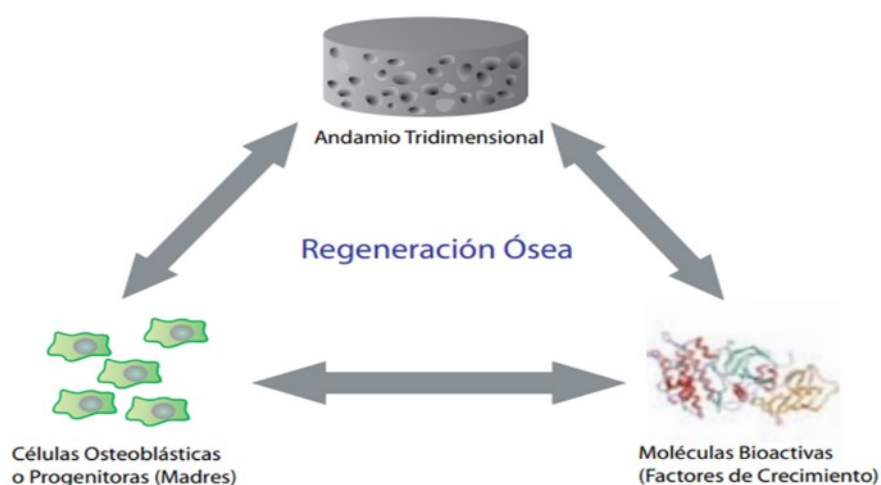


Ilustración 3 Triada de la ingeniería de tejidos.

Los biomateriales se definen como materiales que consisten en sistemas completos que interactúan con sistemas biológicos que ayudan a evaluar, tratar o reemplazar varias funciones en un tejido u organismo. Entre los materiales más utilizados para fabricar andamios se encuentran las cerámicas, los polímeros sintéticos o naturales, y biocompositos de estos (Flores-Macías 2017; Thavornyutikarn *et al.*, 2014).

Los andamios deben de cumplir ciertas características para que sean totalmente funcionales y accesibles para su fabricación y para el paciente; a continuación, se muestran los criterios que se deben cumplir al momento de fabricar un andamio:

CRITERIO	DESCRIPCIÓN
Biocompatibilidad	Correcta adhesión al tejido del hospedero sin ser tóxico o que active respuesta inmune.
Osteoinductividad	Reclutamiento de células madre y osteoprogenitoras en el sitio de regeneración, estimuladas para que se presente la diferenciación hacia la línea osteogénico.
Osteoconductividad	Fácil adhesión al tejido óseo como soporte estructural; permitir y/o estimular la proliferación y diferenciación de las células.

Biodegradabilidad	La degradación debe ser constante para que permita el depósito de nuevo tejido óseo a la misma tasa de degradación; que los productos de degradación no deben ser tóxicos.
Propiedades Mecánicas	Los andamios deben ser resistentes a la carga según el sitio donde serán implantados.
Porosidad	Deben ajustarse a una alta porosidad con poros interconectados de 100 a 500 μm (el tamaño de los poros afecta la velocidad de migración celular) para la distribución de nutrientes y estimulantes, la eliminación de desechos metabólicos y la vascularización.
Fabricación	Deben de ser fáciles de fabricar y reproducibles, modificables, esterilizables y de bajo costo.

Las nanopartículas se establecen en uno de los grupos más importantes de los nanomateriales estructurados, como por ejemplo las nanopartículas cerámicas que también se conocen como nanóxidos cerámicos; las dimensiones de estos materiales deben ser inferiores a 100 nm (Villarreal *et al.*, 2017).

Las nanopartículas de zirconia se han utilizado como vehículos eficaces para medicamentos contra el cáncer. Esto sugiere que también podrían ser utilizadas para administrar fármacos que promuevan la regeneración ósea. Adicionalmente, existen estudios que han demostrado que las nanopartículas de zirconia tienen propiedades antibacterianas, lo cual es importante en la regeneración ósea ya que las infecciones pueden retrasar o impedirla. Por lo anterior, las nanopartículas de zirconia pueden ser utilizadas en la fabricación de andamios para la regeneración de tejido óseo, los cuales proporcionarían un soporte estructural para las células óseas. Pueden ser utilizadas en combinación con otros materiales, como el quitosano, para la regeneración ósea. Esto sugiere que las nanopartículas de zirconia pueden ser utilizadas en una variedad de aplicaciones para la regeneración ósea. En resumen, las nanopartículas de zirconia tienen un gran potencial en la regeneración ósea debido a sus propiedades únicas, incluyendo su capacidad para administrar fármacos, sus propiedades antibacterianas, su uso en la fabricación de andamios y su capacidad para ser utilizadas en combinación con otros materiales (Benítez *et al.*, 2020).

Antecedentes de nanopartículas de zirconia en andamios.

REFERENCIA	OBSERVACIONES
Ardila-Rodriguez. (2020). Estudio de las propiedades, diseño y aplicación del zirconio como alternativa de uso en prótesis articulares. Revista de Investigación, 1, 1-5.	Se resalta que el zirconio ofrece una excelente respuesta ósea, menor adherencia bacteriana, alta resistencia a la fractura y compresión, lo que lo convierte en un material idóneo para tratamientos prolongados y exigentes.
Jayakumar, <i>et al.</i> (2011). Fabrication of chitin–chitosan/ nano ZrO_2 composite scaffolds for	La incorporación de nano ZrO_2 en el andamio de quitina-quitosano se observa mejora la osteogénesis. Los estudios de viabilidad celular demostraron la

tissue engineering applications. International Journal of Biological Macromolecules, 49(3), 274-280.	naturaleza no tóxica de los andamios de nanocompuestos. Se encontró que las células estaban unidas a las paredes de los poros y se extendían uniformemente a lo largo de los andamios.
Mansur, <i>et al.</i> (1998). Zirconia-calcium phosphate composites for bone replacement. Ceramics international, 24(1), 77-79.	Los datos indican que la resistencia y la tenacidad de los fosfatos de calcio utilizados en aplicaciones clínicas pueden mejorarse mediante la adición de partículas de zirconio.
Piconi, Maccauro. (1999). Zirconia as a ceramic biomaterial. Biomaterials, 20(1), 1-25.	No se detectaron reacciones adversas locales o sistémicas correlacionadas con el material, ni se observaron efectos citotóxicos directamente con la presencia de cerámica de zirconio o precursores, a pesar de la variedad de materiales probados y métodos de prueba utilizados (diferentes líneas celulares, animales modelos y sitios de implantes).

PARTE EXPERIMENTAL

Preparación del biomaterial

Se disolvió 1 gramo de polímero en 30 mL de cloroformo a temperatura ambiente durante 24 horas a 300 rpm. Después se pasó 15 mL de la solución a otro matraz y se añadieron nanopartículas de zirconia en concentraciones variables para obtener compositos de PLA (100%), PLA/ZrO₂ 0.5% y PLA/ZrO₂ 1% en peso. Tras la preparación de los compuestos, se homogeneizaron en un ultrasonificador durante 30 minutos. Se colocaron 100 uL de los compuestos en cristales circulares esterilizados, se centrifugaron a 70 rpm por 5 minutos y se secaron en una campana de extracción durante 30 minutos para evaporar el cloroformo. Finalmente, se esterilizaron en autoclave y su posterior exposición a luz UV en una campana de flujo laminar durante 40 minutos.

Modelo celular

Se empleó la línea celular de preosteoblastos de ratón (*Mus musculus*) MC3TE-E1 subclona 4 en un estado de proliferación. El cultivo celular se mantuvo en condiciones de crecimiento exponencial, en una atmósfera con un 6% de CO₂ a 37 °C. Se llevó a cabo dos pasajes celulares durante un período de dos semanas, con una dilución de 1:8 durante la primera semana y de 1:4 en el último día de la segunda semana utilizando, mínimo medio esencial alfa (MEM-alfa), sin ácido ascórbico.

Diferenciación de preosteoblastos:

Expresión de colágeno

La determinación de colágeno se llevó a cabo a los 4, 7 y 14 días posteriores al cultivo de células sobre las películas del biomaterial, colocados en una placa de cultivo de 24 pocillos. Tras la recolección de muestras se realizaron dos lavados con PBS 1X y se transfirieron a una placa no estéril. Las muestras fueron fijadas con 200 µL de solución de Bouin's (15 mL de solución saturada acuosa de ácido pícrico, 5 mL de formaldehído al 35% y 1 mL de ácido acético glacial) durante una hora a temperatura ambiente y agitación. Después de la incubación, se retiró el colorante y se añadieron 500 µL de agua destilada, seguido de una incubación de 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante, se lavó con agua destilada hasta que desapareciera el colorante del fijador. Una vez que el fijador se eliminó por completo, las películas se colocaron en una campana de extracción para secarse al aire durante 30 minutos. Una vez secas, se añadieron 200 µL del colorante Sirius Red y se incubaron en agitación y oscuridad durante una hora. Tras la incubación, se retiró el colorante, se lavó con ácido clorhídrico 0.01 N hasta la completa

eliminación del colorante no fijado, y luego se agregaron 200 μ L de hidróxido de sodio 0.1 N para recolectar el colorante fijado al colágeno tras incubarlo durante 30 minutos. Finalmente, se recogió el sobrenadante para realizar lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro a 550 nm, utilizando el hidróxido de sodio como blanco.

Actividad de fosfatasa alcalina con 4-MUP

El ensayo se llevó a cabo en los días 3, 7, 14 y 21 después del cultivo. Para la toma de muestras, se realizaron dos lavados con PBS 1X en condiciones estériles, trasladando luego los cristales a una placa de cultivo de 24 pocillos no estéril para el lisado celular siguiendo un protocolo específico. Una vez en la placa no estéril, se añadieron 200 μ L de IGEPAL (0.2% en PBS 1X) a cada pocillo y se agitaron durante 30 minutos. Posteriormente, el lisado se transfirió a microtubos y se almacenaron a -70°C hasta el procesamiento con 4-MUP. Para el ensayo, se utilizó una placa negra de 96 pocillos, donde se añadieron 50 μ L de cada lisado de proteínas obtenido previamente, seguido de la adición de 10 μ L de una solución de TRIS 50 mM, BSA 0.1% y 4-MUP 200 μ M durante 30 minutos. Finalmente, se midió la fluorescencia en un espectrofluorómetro con una excitación de 360 nm y una emisión de 450 nm. Para normalizar los datos se determinó la concentración de proteína total de cada muestra por el método micro-Bradford.

Tinción histoquímica por Rojo de Alizarina S (RAS)

El grado de mineralización ósea se determinó mediante la cuantificación de los depósitos de calcio a los 7, 14 y 21 días posteriores a la siembra del cultivo, se realizó el siguiente procedimiento: En condiciones estériles, las células adheridas al biomaterial se lavaron dos veces con PBS 1X. Luego, los cristales con el biomaterial se transfirieron a una placa no estéril y se fijaron con etanol al 70% durante 1 hora a 4°C . Posteriormente, se lavaron tres veces con agua destilada estéril, teniendo cuidado de no remover las células. A continuación, se agregaron 50 μ L del colorante rojo de alizarina, asegurándose de cubrir completamente el cristal y el material sin dañar la capa celular. La placa se colocó en agitación suave y en oscuridad durante 20 minutos a temperatura ambiente. En seguida se retiró el colorante y se realizaron lavados con agua tridestilada hasta que el colorante desapareciera por completo del sobrenadante. Se tomaron fotografías en un microscopio invertido. Posteriormente, se agregaron 200 μ L de una solución de HCl 0.5 N con SDS al 5% y se incubaron las muestras nuevamente durante 30 minutos en agitación suave y oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente, se recuperó el sobrenadante y se colocó en una placa de 96 pocillos para realizar la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 415 nm, utilizando la solución SDS-HCl como blanco.

RESULTADOS

Expresión de colágeno

La diferenciación de preosteoblastos fue evaluada mediante la determinación de colágeno los días 4, 7 y 14 posteriores al cultivo de los films con las células. Esta expresión aumentó en los tres tipos de biomateriales conforme transcurrían los días de incubación, al día 4 el colágeno es similar para todas las muestras. Es hasta el día 7 se presenta una mayor expresión de colágeno en los biomateriales con zirconia, siendo mayor en el film de PLA/ZrO₂ 1%.



Ilustración 4 Tinción de colágeno

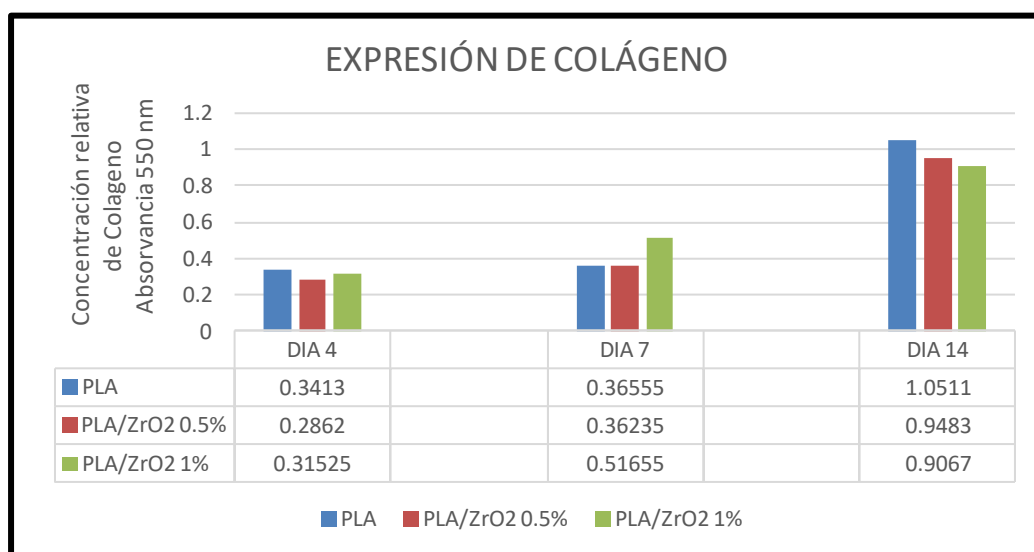


Ilustración 5 Expresión relativa de colágeno.

Actividad de fosfatasa alcalina con 4-MUP

Se monitoreó la actividad de la actividad fosfatasa alcalina de las células MC3T3-E1 durante los días 3, 7, 10, 14 y 21 posterior a su cultivo como parte de la evaluación de la diferenciación de osteoblastos. Durante los días 3 y 7 los valores se mantuvieron similares para todas las muestras y a partir de aquí se ve un aumento, expresándose los niveles más altos de actividad el día 21, habiendo un incremento del 70% en los films que contenían ZrO₂.

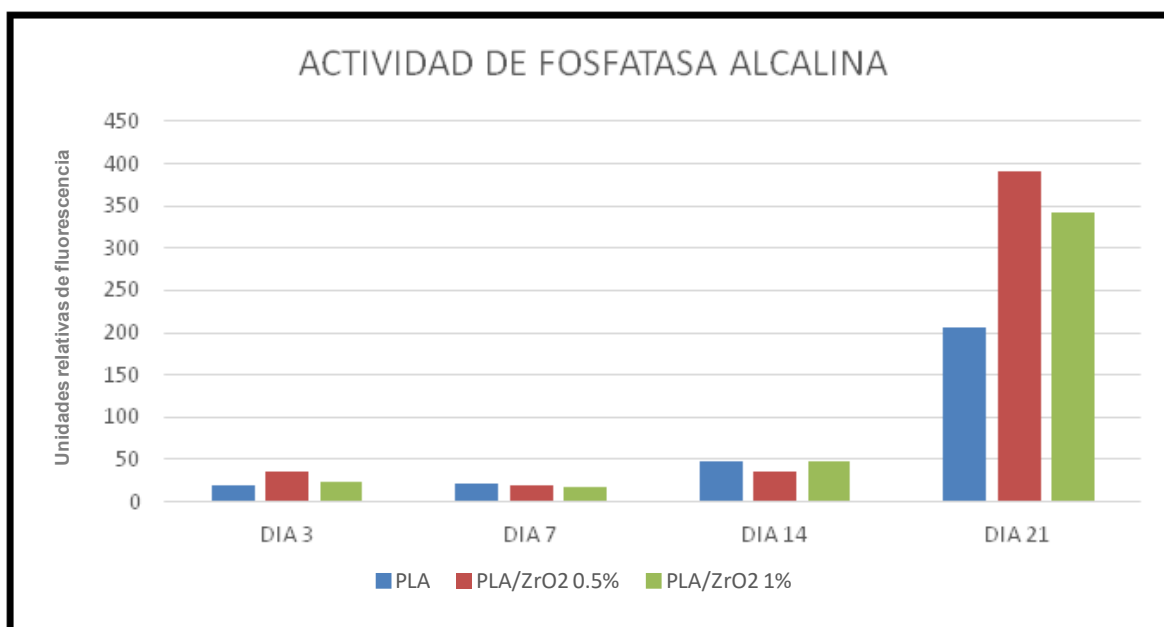


Ilustración 6 Actividad de fosfatasa alcalina.

Tinción histoquímica por rojo de alizarina S (RAS)

En la determinación de la mineralización de la matriz extracelular (ME), se tomaron muestras en los días 7, 21 y 28 continuando el protocolo descrito en materiales y métodos. El grado de mineralización se determinó por espectrofotometría a 415nm después de recuperar el rojo de alizarina fijado a los nódulos de calcio presentes en la ME. Se observó que el mayor grado de mineralización se presenta en los films de PLA/ZrO₂. Las determinaciones del día 7 representan el umbral de nódulos de calcio presente en cultivos que ya exhiben la formación de ME. De acuerdo al modelo celular, la mineralización inicia a partir del día 20. De aquí que se observe una pequeña expresión el día 7, en comparación con los días 21 y 28. Las diferencia en el grado de mineralización de los films PLA/ZrO₂ se ven desde el día 21, incrementando aún más para el día 28 en el film de PLA/ZrO₂ 1%. Para los films de PLA se observa un incremento del día 21 al 28, pero no alcanzan un nivel significativo a comparación de los films de PLA/ZrO₂ 1%.

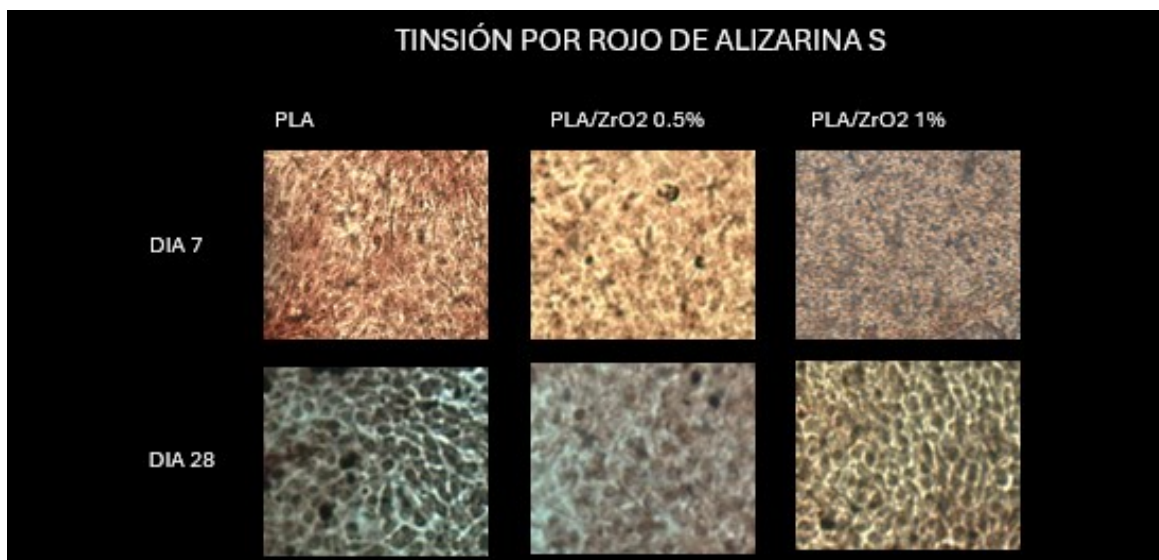


Ilustración 7 Grado de mineralización ósea relativa.

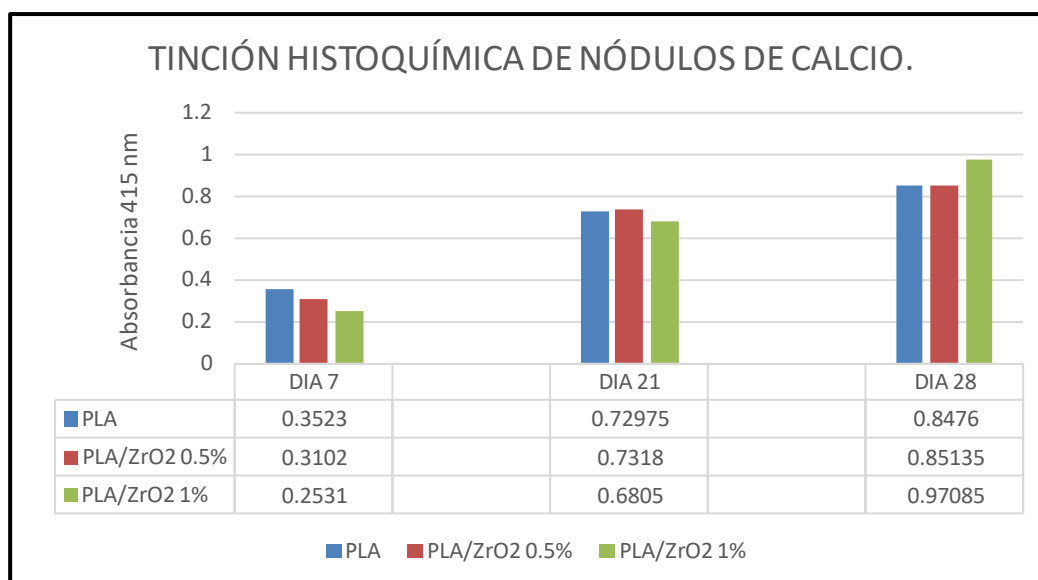


Ilustración 8 Grado de mineralización relativa.

CONCLUSIONES

No se observó diferencia significativa en el grado de adhesión celular entre los 3 tipos de films: menor al 4% respecto al control de PLA. Respecto a la expresión de colágeno, esta se vio incrementada desde el día 7, siendo mayor en el film PLA/ZrO₂ 1%. La actividad de fosfatasa alcalina se observó incrementada en más del 70% en los films que contenían ZrO₂, siendo máxima el día 28. Por último, la mineralización de la matriz extracelular se observó a partir del día 21 en los 3 films; sin embargo, al día 28 el incremento fue del 15% en el film PLA/ ZrO₂ 1% respecto a los de PLA y PLA/ ZrO₂ 0.5%. La comparativa del grado de mineralización entre los días 7 y 28 representa un aumento de 3.9 veces.

BIBLIOGRAFÍA

1. Amgen, "Cada 3 segundos se presenta una fractura por osteoporosis en el mundo", Amgen, consultado el 19 de octubre de 2020, <https://www.amgen.com.mx/media/news-release-listing/2021/10/segundos-se-presenta>
2. Ardila-Rodriguez R., "Estudio de las propiedades, diseño y aplicación del zirconio como alternativa de uso en prótesis articulares", *Revista de Investigación*, Vol. 1, 2020, pp. 1-5.
3. Bains F., G. Novajra, C. Vitale-Brovarone, "Biocerámicas y andamios: una combinación ganadora para la ingeniería de tejidos", *Fronteras en bioingeniería y biotecnología*, Vol. 3, 2015, pp. 202.
4. Benítez L. D. L. C. C., R. M. Delgado, F. L. C. Díaz, "Actualización sobre los últimos adelantos científicos en estomatología", *Medimay*, Vol. 27, 4, 2020, pp. 567-577.
5. Concepto S. r. l., "Zirconia en medicina", consultado el 23 de abril de 2024, <https://www.zirconiaconcept.it/es/zirconia/zirconia-en-medicina>
6. Flores-Macías R., "Evaluación biológica in vitro de biomateriales de PLA-PLC-nHA aplicables a la regeneración de tejidos óseos", tesis de Maestría en Cs. de la Salud de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2017, pp. 78.
7. Gasca L. G. D., S. L. O. Villaseñor, "Frecuencia y tipos de fracturas clasificadas por la Asociación para el Estudio de la Osteosíntesis en el Hospital General de León durante un año", *Acta médica grupo Ángeles*, Vol. 15, 4, 2017, pp. 275-286.
8. Jayakumar R., R. Ramachandran, P. S. Kumar, V. V. Divyarani, S. Srinivasan, K. P. Chennazhi,... S. V. Nair, "Fabrication of chitin-chitosan/nano ZrO₂ composite scaffolds for tissue engineering applications", *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 49, 3, 2011, pp. 274-280.
9. Mansur C., M. Pope, M. R. Pascucci, S. Shivkumar, "Zirconia-calcium phosphate composites for bone replacement", *Ceramics international*, Vol. 24, 1, 1998, pp. 77-79.
10. MedlinePlus, "Fracturas: MedlinePlus en español", MedlinePlus, recuperado el 30 de marzo de 2024, <https://medlineplus.gov/spanish/fractures.html>
11. Murphy C. M., F. J. O'Brien, D. G. Little, A. Schindeler, A. "Interacciones célula-andamio en la tríada de ingeniería de tejido óseo", *Revista de Investigación*, Vol. 2, 2013, pp. 1-10.
12. NIBIB, "Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa", NIBIB, recuperado el 29 de marzo de <https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/ingenier%C3%ADa-de-tejidos-y-medicina-regenerativa-0>
13. Oheim R., "Osteopatías y enfermedades metabólicas óseas", *Cirujano de trauma*, Vol. 118, 2015, pp. 1007-1016. <https://doi.org/10.1007/s00113-015-0094-8>
14. Piconi C., G. Maccauro, "Zirconia as a ceramic biomaterial", *Biomaterials*, Vol. 20, 1, 1999, pp. 1-25.
15. Saladin K. S., "Anatomía y fisiología: la unidad entre forma y función", McGraw-Hill, 7a ed., 2012, pp. 370.
16. Thavornytikarn B., N. Chantarapanich, K. Sitthiseripratip, G. A. Thouas, Q. Chen, Q., "Andamiaje de ingeniería de tejido óseo: técnicas de andamiaje asistidas por computadora", *Avances en biomateriales*, Vol. 3, 2, 2014, pp. 61-102.
17. Villarreal I., N. Rosas, V. H. Guerrero, "Síntesis de Nanopartículas de Óxido de Zirconio", *Revista Politécnica*, Vol. 38, 2, 2017, pp. 7.

EFFECTO DEL CONSUMO DE ANTIOXIDANTES SOBRE LOS OVOCITOS DE HEMBRAS HÁMSTER SIRIO DORADO

Viridiana Ramírez Cruz, José Roberto Vázquez Avendaño, Alfredo Trejo Córdova,
Demetrio Alonso Ambriz García, María del Carmen Navarro Maldonado

Departamento de Biología de la Reproducción, División de Ciencias Biológicas y de la Salud.
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, CDMX.
deme@xanum.uam.mx

RESUMEN

Hoy en día, es común y generalizado el consumo de antioxidantes en alimentos suplementos para prevenir o paliar daños celulares propios del estrés y de la edad. Existe evidencia de que el uso de antioxidantes *in vitro* promueve mejores condiciones para los gametos y embriones de mamíferos, sin embargo, en condiciones *in vivo*, su efecto ha sido aleatorio. Por ello, en el presente trabajo se evaluó *in vivo*, el efecto del consumo de dos antioxidantes: Resveratrol (RV) y Vitamina C (VC) sobre la concentración intracelular de especies reactivas de oxígeno (ERO) y glutatión reducido (GSH) en ovocitos maduros de hembras hámster. Para ello se utilizaron 18 hembras hámster de 6 meses de edad con ciclos estrales regulares y un peso corporal promedio de 160 g, mantenidas en condiciones de bioterio. Durante 6 semanas se les suministró RV vía oral (300 µL, Greenside SA de CV, Functional foods, México) y VC (0.04 g, Redoxón, Bayer, México) en 25 mL de agua por individuo. El grupo control (AG) sólo recibió agua. Se registró el peso corporal inicial y final. Se calculó el índice ovárico y oviductal. Se contabilizaron los cuerpos lúteos (CL) en los ovarios, así como el total de ovocitos oviductales y en ellos se determinó la presencia y niveles de ERO y GSH. Se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) en el aumento del peso corporal entre el grupo VC (37.8g) en comparación con el AG (49.7 g). No hubo diferencias entre tratamientos ($p > 0.5$) en los índices ováricos ni oviductales, aunque sí una tendencia de un mayor índice oviductal del RV por su efecto estrogénico. El número de CL y ovocitos fue similar entre tratamientos (9.3 RV, 9.8 VC y 9.3 AG, $p > 0.05$). Finalmente, la intensidad de fluorescencia de ERO y GSH fue similar entre tratamientos ($p > 0.05$). En el presente trabajo no hay evidencia de un efecto antioxidante *in vivo* en los ovocitos de hembras hámster que consumieron Resveratrol y Vitamina C.

INTRODUCCIÓN

La presencia de ERO (Especies Reactivas de Oxígeno) en los organismos, compromete su potencial biológico en la producción de gametos (ovocitos y espermatozoides), así como en su capacidad de fertilidad. Los cambios fisiológicos en relación con la edad son causados principalmente por el envejecimiento y otros estresores ambientales, lo cual ocasiona un deterioro progresivo en los ovarios, por tal motivo, existe interés por proponer alternativas que disminuyan el estrés oxidativo en los organismos para obtener gametos de mejor calidad y con el potencial de generar embriones viables. Hoy en día hablar de antioxidantes y su consumo es más común de lo que parece. Los antioxidantes se encargan de neutralizar la acción oxidante generada por radicales libres previniendo o postergando daños celulares. Se encuentran presentes de forma natural en frutas y verduras, y en suplementos alimenticios de diferentes marcas comerciales (Núñez, 2011).

Existen mecanismos de defensa conocidos como sistemas antioxidantes que se encargan de mantener el equilibrio de las reacciones de óxido reducción y sobrevivencia celular. Éstos se clasifican como *exógenos*, es decir que ingresan a través de la dieta, tales como: la vitamina E, el betacaroteno, los flavonoides y el licopeno (Mayor, 2010), y como *endógenos*, es decir que se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células. A su vez los endógenos, se subclasifican en *enzimáticos* tales como: la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa tiorredoxina (TRX), la peroxirredoxina, la catalasa, el glutatión reductasa (GRx), la glutarredoxina, y la tiorredoxina reductasa (TrxR), y en no *enzimáticos*, como: el glutatión reducido (GSH), la mioglobina, las metalotioneínas y la Coenzima Q (Guija y Guija, 2023).

En contraste con lo anterior, desde hace miles de años se han empleado extractos de plantas en la medicina tradicional, como el Resveratrol, aunque apenas hace 30 años se aisló y se comenzaron a

estudiar sus propiedades, las cuales *in vitro* han sido ampliamente constatadas, sin embargo, en contraste, en condiciones *in vivo*, se ha comprobado que tras el consumo oral de éste y otros antioxidantes como la Vitamina C, la absorción es buena pero las vías metabólicas dejan una pequeña fracción de los antioxidantes en la sangre y por lo tanto la disponibilidad en los tejidos diana es muy baja y de efectos aleatorios (Gambini *et al.*, 2013).

ANTECEDENTES

El resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) es un polifenol natural con estructura de estilbeno que se ha utilizado durante más de 2000 años en la medicina tradicional. Su estructura básica se compone de dos anillos fenólicos unidos entre sí mediante un doble enlace de estireno, que forma el 3,5,4'-trihidroxiestilbeno y tiene un peso molecular 228,25 g/mol; su absorción se da a nivel intestinal por difusión pasiva o formando complejos con transportadores de membrana, como las integrinas. Una vez en el torrente sanguíneo, se le puede encontrar en tres formas diferentes: glucurónido, sulfato o libre, y que, a su vez, pueden disociarse en las membranas celulares que tienen receptores para albúmina, permitiéndole ingresar a las células. Aunque cabe recalcar que varía según la forma en que se consume y el tipo de alimento o suplemento ingerido y a pesar de la baja biodisponibilidad, el resveratrol muestra eficacia *in vivo*. En cuanto a sus propiedades beneficiosas, el resveratrol posee una amplia gama, entre ellas, su actividad como anticancerígeno, antiagregante plaquetario y antioxidante, así como su actividad antienvjecimiento, propiedades biológicas que se han estudiado ampliamente en humanos y modelos animales tanto *in vivo* como *in vitro* (Gambini, 2015).

En contraste con lo anterior, los efectos del resveratrol sobre la reproducción de mamíferos han captado cada vez más la atención (Liu *et al.*, 2013). Se sabe que los ovocitos y embriones se muestran vulnerables al estrés oxidativo, por lo que hoy en día en diversos estudios se ha implementado el uso de antioxidantes en sistemas *in vivo* e *in vitro* para mejorar la maduración de los ovocitos y la competencia del desarrollo de los embriones (Wang, 1999). Algunos de los efectos beneficiosos del resveratrol en la reproducción son: el retraso en la descomposición de ovocitos y la inhibición de la transición del folículo primordial al folículo en desarrollo durante la apoptosis, manteniendo ciclos estrales regulares en el modelo roedor a una edad temprana. Así mismo, se ha observado que el consumo prolongado de antioxidantes en la dieta de ratones jóvenes mejora el número y la calidad de sus ovocitos y el desarrollo embrionario (Liu *et al.*, 2013).

Por otra parte, el ácido ascórbico (C₆H₈O₆) comúnmente conocido como "vitamina C", es el principal antioxidante no enzimático hidrosoluble presente en el plasma, donde se encuentra predominantemente en la forma de anión ascorbato (AA⁻) y en menor medida, como radical ascorbilo (AA[•]) y anión deshidroascorbato (DHA⁻), tiene un peso molecular de 176,13 Da y posee propiedades ácidas y fuertemente reductoras debido a su estructura enediol y a la posibilidad de ionizar el hidroxilo situado sobre el carbono 3, formando un anión que queda estabilizado por resonancia (Villagrán, *et al.*, 2019).

Así mismo, en humanos, la vitamina C es un micro-nutriente esencial, necesario para todas las funciones biológicas y fisiológicas de los tejidos, incluidos los órganos reproductivos (Coker, 2023). Entre sus funciones se encuentran las reacciones enzimáticas y las antioxidantes, protegiendo a las células de daños causados por radicales libres, también es esencial en la síntesis del colágeno e interviene en la síntesis de lípidos, proteínas, norepinefrina, serotonina, L-carnitina, y en el metabolismo de tirosina, histamina y fenilalanina (Serra y Cafaro, 2007). Por lo tanto, la presencia de la vitamina C en el ovario estimula la producción de hormonas lúteas, como la progesterona, que preparan al endometrio para la implantación embrionaria y el mantenimiento del embarazo, a su vez, regula la hidroxilación del colágeno, un proceso crucial para las funciones ováricas como el crecimiento del folículo, la formación del cuerpo lúteo y la reparación de la pared folicular después de la ovulación. Además, se ha reportado que la deficiencia de vitamina C da lugar a la suspensión del ciclo estral en algunas especies como las cobayas, aunque cabe recalcar que una ingesta inadecuada de vitamina C podría causar alteraciones en la regulación de los ciclos menstruales y estrales, así como la función ovárica y uterina, y afectar negativamente la fertilidad femenina (Coker, 2023).

JUSTIFICACIÓN

Puesto que el resveratrol y la vitamina C poseen una actividad antioxidante que ayuda a reducir la presencia de los radicales libres que provocan daño celular en diversos procesos del organismo, en este estudio se evaluó la presencia de ERO y GSH en los ovocitos de hembras hámster sirio dorado que recibieron previamente antioxidantes por vía oral.

HIPÓTESIS

Si las hembras hámster sirio dorado consumen antioxidantes orales como el resveratrol y la vitamina C, entonces sus ovocitos mostrarán un efecto benéfico en relación con la disminución de ERO y GSH.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del consumo de los antioxidantes resveratrol y vitamina C por vía oral, en la reducción de ERO Y GSH en ovocitos de hámster sirio dorado.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto del consumo de resveratrol y vitamina C en la cantidad de ovocitos y cuerpos lúteos de hámster sirio dorado.
- Evaluar el efecto del consumo de resveratrol y vitamina C en el peso corporal.
- Evaluar el efecto del consumo de resveratrol y vitamina C en el peso ovárico.
- Evaluar el efecto del consumo de vitamina C y vitamina C en la presencia de ERO y GSH.

METODOLOGÍA

Se utilizaron 3 grupos de 6 hembras hámster sirio dorado (*Mesocricetus auratus*) de 6 meses de edad. Se alojaron en cajas de acrílico (50 x 34 x 30 cm) con cama de viruta, bajo condiciones de bioterio a 26 °C, y fotoperiodo de 14 h de luz por 10 h de oscuridad, alimentadas *Ad libitum* con nutricubos marca Harlan y agua fresca. Se elaboró un registro del peso corporal inicial y se realizó un seguimiento diario del ciclo estral, evaluando su regularidad por al menos 3 ciclos seguidos, determinados por la presencia de la Secreción Vaginal Post Ovulatoria (SVPO) cada 4 días (Vargas *et al.*, 2018).

Tratamientos

Al grupo control (AG) se le administraron 25 mL de agua de bebida por individuo. Al grupo experimental 1 (RV) se le administraron 0.300 µL de resveratrol por cada 25 mL de agua de bebida. Al grupo experimental 2 (VC), se le administraron 0.040 g de vitamina C (Redoxon) por cada 25 mL de agua de bebida. Las dosis de antioxidantes se determinaron basándose en el peso corporal y el consumo recomendado para humanos con relación al peso corporal de las hembras hámster y se dieron por 6 semanas.

Colecta de ovocitos

Al siguiente estro, las hembras se sacrificaron por dislocación cervical. Se registraron sus pesos corporales y se colocaron en posición de decúbito dorsal, posteriormente se hizo una incisión sobre la línea media a 4 cm arriba del área genital para diseccionar el aparato reproductor (ovario y oviducto) y limpiarlo de la grasa. Éste se lavó con solución Hartmann (SH) y se secó para colocarlo en una caja de cultivo de 4 pozos (Nunc). En el microscopio estereoscópico se localizó la fimbria para realizar la perfusión oviductal con una jeringa de insulina con la punta doblada en ángulo de 90° y bisel romo, conteniendo 50 µL de SH, recuperando la solución en cada pozo. Bajo el microscopio estereoscópico se efectuó el conteo de los ovocitos. También se contó el número de folículos y cuerpos lúteos en los ovarios (Navarro *et al.*, 2000).

Niveles de ERO y GSH

Se prepararon 90 μL de SH con 10 μL de Suero Fetal Bovino (SFB) y una solución de montaje a base de 500 μL de SH con 500 μL de glicerol (1:1). Con una pipeta Pasteur alargada se tomaron los ovocitos y se lavaron 3 veces en 20 μL de SH. Para determinar la presencia de ERO y GSH, los ovocitos se colocaron en 25 μL de SH con 1 μL de diacetato de 2, 7-diclorofluoresceína (DCFH-DA) y 1 μL de diacetato de 5-clorometilfluoresceína (CMFDA), respectivamente, en cajas de 4 pozos (Nunc) cubiertas con papel aluminio, sobre una platina a 37 °C en campana de flujo laminar, para posteriormente incubarlos 30 min (38.5 °C, 5% CO₂ y humedad a saturación). Se realizaron tres lavados en 20 μL de SH y se fijaron en 20 μL de paraformaldehído al 4% por 15 min. Para el montaje de los ovocitos se colocaron sobre un portaobjetos en húmedo, se deshidrataron y se agregaron 5 μL de solución de montaje, se cubrieron con cubreobjetos y se selló con esmalte de uñas. Para determinar cualitativamente los niveles de ERO y GSH en los ovocitos, se observaron bajo microscopio de epifluorescencia con un filtro UV de 460 nm para ERO (DCFH) y de 405 nm para GSH (CMFDA). Posteriormente, se tomaron fotografías y se determinó semicuantitativamente la intensidad de la fluorescencia con el software Image J (Martínez, *et al.*, 2019).

Análisis estadístico

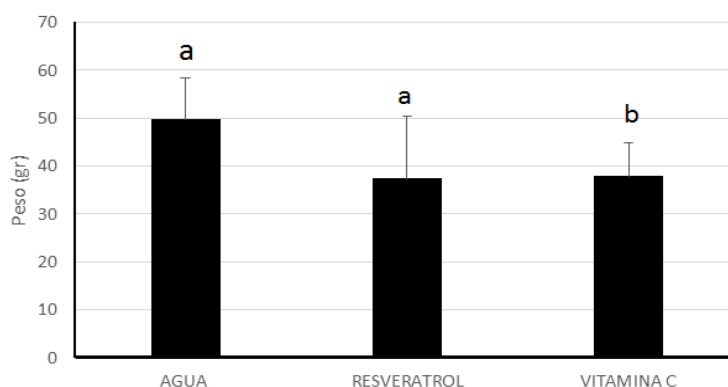
Las variables analizadas fueron: el peso corporal inicial y final de las hembras, el peso oviductal y gonadal, la cantidad de cuerpos lúteos presentes en los ovarios y el número de ovocitos colectados y, la presencia y niveles de ERO y GSH en los ovocitos. Todas las variables, excepto la presencia de GSH y ERO, se analizaron mediante una prueba T de Student para medias de dos muestras emparejadas, con un valor de significancia de $p < 0.05$. Para los niveles de GSH y ERO se efectuó un Análisis de Varianza de un factor.

RESULTADOS

Efecto del consumo de los antioxidantes en el peso corporal de hembras hámster

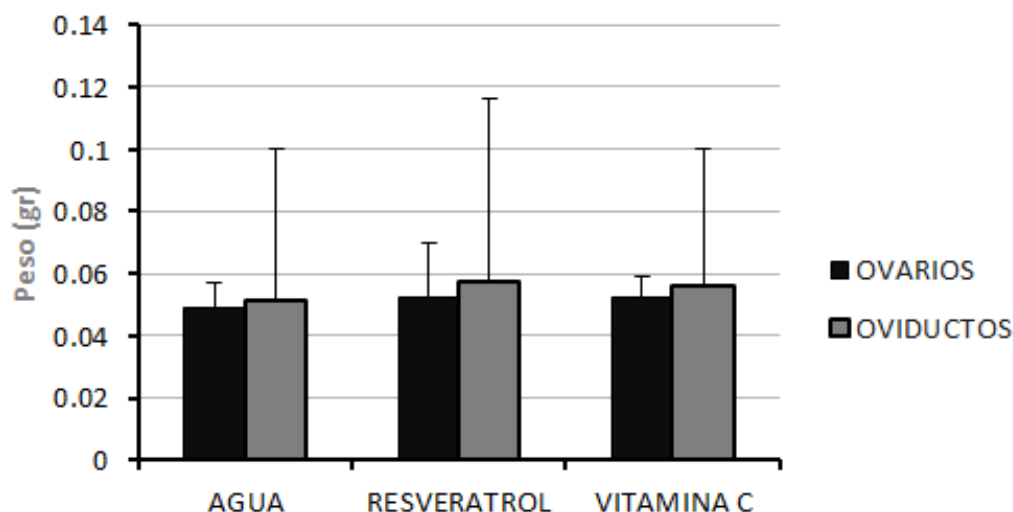
El peso corporal relacionado al consumo de antioxidantes mostró una ganancia menor significativa ($p < 0.05$) en el grupo VC (37.8 ± 6.9 g) vs. el grupo AG (49.7 ± 8.6 g) (Figura 1), mientras que el grupo RV no mostró diferencias vs el grupo AG. Por otra parte, no hubo diferencia significativa en el peso de ovarios y oviductos en ninguno de los tratamientos.

Figura 1. Ganancia de peso corporal ($x \pm \text{DE}$) en hembras hámster que recibieron antioxidantes ($n=18$).



Las literales diferentes (a, b) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$).

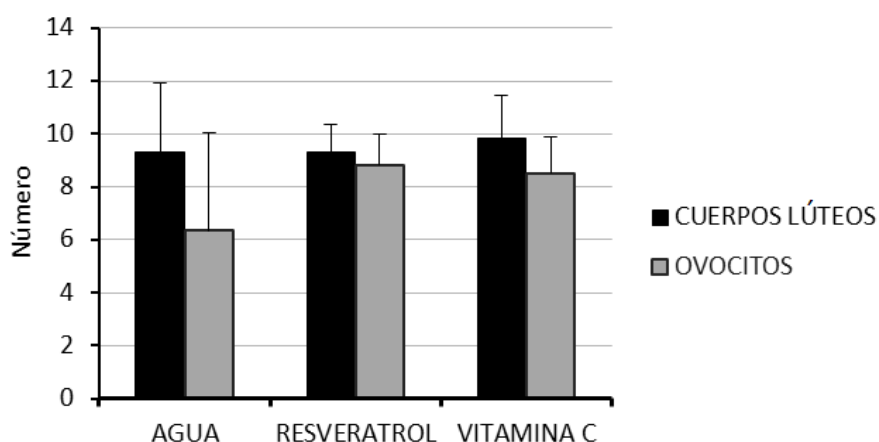
Figura 2. Peso ovárico y oviductal ($X \pm DE$) de hembras hámster que recibieron antioxidantes (n=18).



Efecto del consumo de los antioxidantes en la fertilidad de hembras hámster

El número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios de las hembras de cada grupo tratado fue similar (AG 9.3, RV 9.3 y VC 9.8), así como el número de ovocitos obtenidos en los grupos tratados, con respecto al grupo AG ($p > 0.05$) (Figura 3).

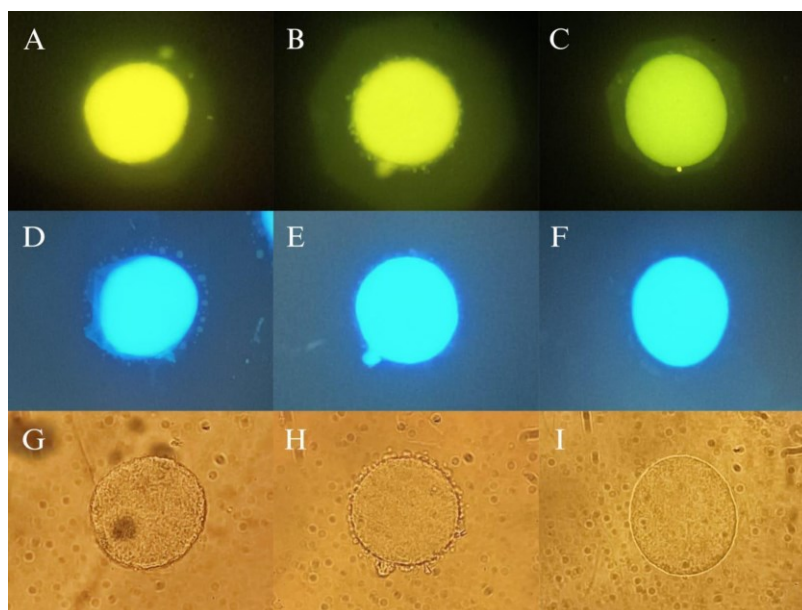
Figura 3. Número de cuerpos lúteos presentes en los ovarios y número de ovocitos ($X \pm DE$) de hembras hámster que recibieron antioxidantes (n=18).



Efecto del consumo de los antioxidantes en los niveles de ERO y GSH en los ovocitos de hembras hámster

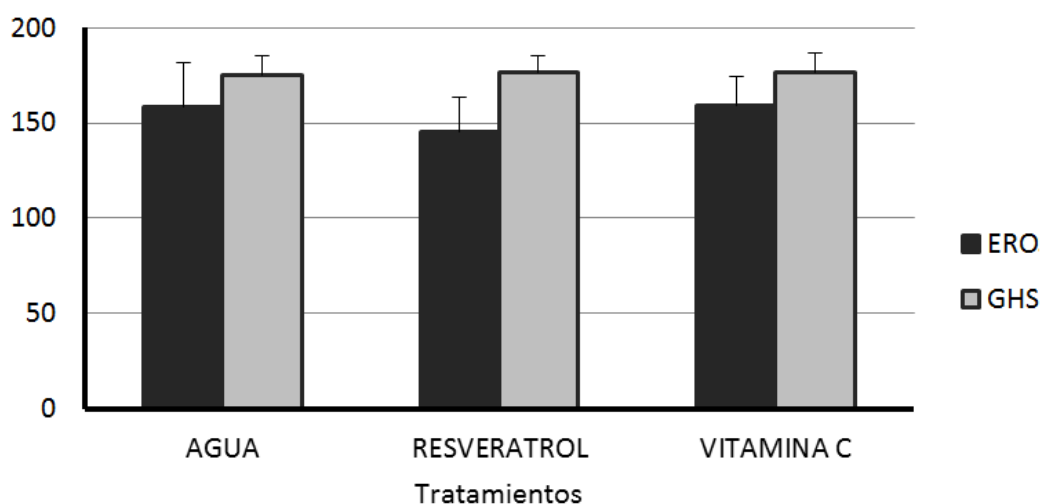
La evaluación cualitativa de los niveles de ERO y GSH en los grupos RV, VC y AG se muestra en la Figura 4. La evaluación semicuantitativa de la intensidad de fluorescencia en el software Image J, no mostró diferencias significativas entre grupos ($p > 0.05$) (Figura 5).

Figura 4. Fotografías en panel de la presencia de ERO y GSH en ovocitos de hembras hámster que recibieron antioxidantes.



Presencia de ERO (A-C) y GSH (D-F) en ovocitos de hembras hámster que recibieron antioxidantes orales. Ovocitos en campo oscuro (A-F) y en campo claro (G-I) a aumento de 40x. A, D y G. Grupo con agua (AG). B, E y H. Grupo con Vitamina C (VC). C, F e I. Grupo con Resveratrol (RV).

Figura 5. Evaluación semicuantitativa de los niveles de ERO y GSH, en ovocitos de hembras hámster que recibieron antioxidantes.



DISCUSIÓN

La disminución de la fertilidad femenina relacionada con la edad aún no está del todo clara. Estudios previos como el de Wang *et al.* (2020), han comprobado que el envejecimiento de tipos celulares específicos, como las células foliculares de los ovarios, da lugar a la alteración de la señalización antioxidante específica de los ovocitos en etapas tempranas de la ovogénesis y de las células de la granulosa, como indicativo de que, con la edad, el daño oxidativo es un factor crucial en el deterioro funcional de los ovarios. Así mismo, los ovocitos requieren grandes cantidades de energía durante la maduración para expulsar el primer y segundo cuerpo polar y completar la meiosis (Bentov, 2010).

Los ovocitos son células que poseen una gran cantidad de mitocondrias como la principal fuente de energía, mismas que son el principal productor de ERO durante los procesos normales oxidativos del metabolismo (Macedo, 2012). Los ovocitos primarios poseen cerca de 6,000 mitocondrias, mientras que un ovocito maduro tiene cerca de 100,000 mitocondrias (Tarazona *et al.*, 2010). Por otra parte, las ERO son compuestos derivados del oxígeno (O_2), algunos de los cuales son radicales libres y otros dan origen a alguno de ellos. Considerando que el O_2 es indispensable para la producción de energía, el exceso de éste en las células tiene un efecto nocivo debido a la formación de especies reactivas generadas durante su oxidación, causando daños en la integridad de los componentes estructurales y fisiológicos de la célula, hasta llegar a la apoptosis (Sánchez y Méndez, 2013).

Ahora bien, el glutatión (L-g-glutamyl-L-cisteinil-glicina) es un tripéptido hidrosoluble formado por los aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, que se encuentra presente en el citoplasma de todas las células (Denzoin *et al.*, 2013), participa en la inhibición enzimática, en la reducción de ERO e inactivación de xenobióticos, controla la permeabilidad de la membrana y el transporte de aminoácidos, funciona como coenzima, interviene en el proceso de apoptosis y síntesis de proteínas, ADN y ARN, además de regular la formación y el mantenimiento de la forma activa de ciertas enzimas (Bonola *et al.*, 2014). Otros estudios han demostrado que los ovocitos con niveles altos de glutatión intracelular producen embriones *in vitro* de mejor calidad (Mukherjee *et al.*, 2014).

Por otra parte, la administración de antioxidantes exógenos para postergar la longevidad del individuo y, por consiguiente, mejorar la calidad de vida, cada vez es más común, por ello el consumo del ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) comúnmente conocido como vitamina C. Ésta es el principal antioxidante no enzimático hidrosoluble presente en el plasma, donde se encuentra predominantemente en la forma de anión ascorbato (AA^-) y en menor medida, como radical ascorbilo ($AA^{\cdot-}$) y anión deshidroascorbato (DHA^-) (Villagrán *et al.*, 2019). Tiene un peso molecular de 176,13 Da y posee propiedades ácidas y fuertemente reductoras. Sin embargo, a pesar de encargarse de proteger a las células de los daños por radicales libres, el estudio de Showell *et al.* (2013), evidencia calidades de baja a muy baja en el beneficio de mujeres que ingirieron vitamina C por vía oral para aumentar la fertilidad. Es decir, el estudio realizado en 5,165 mujeres resultó con un intervalo de confianza del 95% (1,43 a 1,89; $p < 0,001$) en 35 ensayos controlados, lo que determinó la baja calidad de los antioxidantes en la mejora de la tasa de embarazo clínico en comparación con placebo o incluso, sin algún tratamiento.

Del mismo modo, el Resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), es un polifenol natural con estructura de estilbeno que se encuentra principalmente en la piel de las uvas, moras, arándanos, frambuesas y frutos rojos en general, posee una estructura química que hace que tenga poca solubilidad en agua ($< 0,05$ mg/ml), lo que puede afectar la absorción, siendo altamente variable, dependiendo de la forma en la que se consuma y de los alimentos ingeridos.

En el presente estudio, los niveles de ERO en los ovocitos de las hembras hámster que consumieron resveratrol y vitamina C por vía oral por 6 semanas, no mostraron diferencias, posiblemente debido a diversos factores que intervienen en sus efectos, uno de los principales es la biodisponibilidad de los antioxidantes. A pesar de que existen numerosos estudios que evidencian sus beneficios sobre la longevidad, el consumo de antioxidantes en sistemas *in vivo* aún no está del todo claro, pues se dice que las vías metabólicas dejan poca cantidad de estos compuestos activos en la sangre, siendo

baja su disponibilidad en los tejidos diana, por lo que las cantidades de antioxidantes suministradas son insuficientes para obtener efectos benéficos sobre los ovocitos tratados (Gambini *et al.*, 2013). Sin embargo, en condiciones *in vitro* han sido ampliamente estudiados dado el mayor control de las condiciones y concentraciones, además de que la captación y el destino está mejor dirigido (Fernández, 2006).

Por su parte, los niveles de GSH tampoco mostraron diferencia entre tratamientos, aun cuando se ha reportado que además de la acción antioxidante del resveratrol, también favorece la síntesis de GSH intracelular favoreciendo a enzimas que son fundamentales en el equilibrio oxidante embrionario (Mukherjee *et al.*, 2014).

Con respecto al aumento del peso oviductal del grupo RV en comparación con los otros grupos tratados, se debe, en buena medida, al efecto estrogénico que posee. En contraste, la estructura química del resveratrol es muy similar a la de los estrógenos sintéticos como el dietilestilbestrol y el 17- β -estradiol, por tal motivo, se han realizado estudios para comprobar su capacidad de actuar como fitoestrógeno. Cuando ocurre la unión de éste con los receptores de estrógenos, se activa la transcripción de los genes que regulan y es posible activar a los genes antioxidantes obteniendo beneficios en la longevidad (Gambini *et al.*, 2013).

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo, el consumo *in vivo* de antioxidantes (resveratrol y vitamina C) bajo las condiciones descritas, mostró una diferencia significativa en el peso corporal de las hembras hámster del grupo VC con relación a AG, a su vez, el peso oviductal de RV fue ligeramente mayor a AG y VC. Por otra parte, no hubo efecto del consumo de antioxidantes en el número de cuerpos lúteos y ovocitos, ni en los niveles de ERO y GSH en ovocitos de las hembras hámster que los consumieron.

BIBLIOGRAFÍA

1. Y. Bentov, N. Esfandiari, E. Burstein y R. Casper. "The use of mitochondrial nutrients to improve the outcome of infertility treatment in older patients", *Fertile. Sterile* 93, 1, 2010, pp. 272 – 275.
2. I. Bonola, M. Irigoyen, L. Vera, A. Campero y A. Hamdan. "Estrés oxidante: el sistema enzimático glutatión y la salud bucal", *Ciencias clínicas*, vol. 15, núm 1., 2014, pp 2-8.
3. L. Denzoin, A. Soraci y M. Tapia, "Homeostasis del glutatión", *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 47, 3, 2013, pp. 529-539.
4. BD., Gehm, JM. McAndrews, PY. Chien y JL. Jameson, "Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor", *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Dec 9;94,25,141 pp. 38-43. doi: 10.1073/pnas.94.25.14138. PMID: 9391166; PMCID: PMC28446.
5. J.Gambini, R. López, G. Olaso, M. Inglés, K. Abdelazid, M. Alami, V. Bonet, C. Borrás y J. Viña "Resveratrol: distribución, propiedades y perspectivas" *Revista Española de Geriatria y Gerontología* Vol. 48. Núm. 2, 2013, pp.79-88.
6. H. Guija y E. Guija, "Radicales libres y sistema antioxidante", *Horizonte Médico (Lima, 2023)*, 23, 2.
7. A. Macedo, "La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*", *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 15, 2, 2012, pp.97-103.
8. Tarazona A.,López A. Y Olivera-Angel M. "La Competencia del Ovocito: qué, cómo y cuándo", *Acta biol.Colomb.* (Bogotá, 2010) 15 (3).
9. R. Mayor, "Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante" *Rev. Inst. Med. Trop.* 5, 2, 2010, pp.23-29.
10. A. Mukherjee, H. Malik, A. Saha, A. Dubey, D. Kumar, S. Boateng, S. Saugandhika, S. Kumar, S. De, S. Kanti y D. Malakar, "Resveratrol treatment during goat oocytes maturation

- enhances developmental competence of parthenogenetic and hand-made cloned blastocysts by modulating intracellular glutathione level and embryonic gene expression", *J Assist Reprod Genet*, 31, 2014, pp. 229–239.
11. V. Sánchez y N. Méndez, "Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad", *Rev Invest Med Sur Mex*, 20, 3, 2013, pp. 161-168
 12. M. Showell, R. Mackenzie, V. Jordán y R. Hart, "Antioxidants for female subfertility" The Cochrane Library. Published online in 2013.
 13. B. Vargas, D. Ambriz, M.C. Navarro, A. Trejo, G. Rodríguez y M.R. González, "Manejo de animales de bioterio de la UAM-I", Universidad Autónoma Metropolitana Unidad (México, D.F., 2018), pp. 47-51.
 14. A.Núñez. "Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades". *Rev Cubana Salud Pública* [online]. 2011, vol.37, pp. 644-660.
 15. M. Villagrán, M. Muñoz, F. Díaz, C. Troncoso, C. Celis y L. Mardones, "Una mirada actual de la vitamina C en salud y enfermedad" *Revista chilena de nutrición*, 46,6, 2019, pp. 800-808.
 16. S. Wang, Y. Zheng, J. Li, Y. Yu, W. Zhang, M. Song, Z. Liu, Z. Min, H. Hu, Y. Jing, X. He, L. Sun, L. Ma, C. Rodríguez, P. Chan, J. Qiao, Q. Zhou, J.C. Izpisua, J. Qu, F. Tang y G. Hui Liu, "Single-Cell Transcriptomic Atlas of Primate Ovarian Aging" *Cell*, 2020 Jan 30, pii: S0092-8674(20)30056-8. doi: 10.1016/j.cell.2020.01.009.
 17. M. C Navarro, D Ambriz, E. Mundo A. Trejo, O. Hernández y A. Rosado, "Desarrollo embrionario temprano en el hámster sirio dorado, *Mesocricetus auratus* (Mammalia:Rodentia)" *Acta Zool. Mex. (México, DF. 2000)* (n.s) 81, pp. 105-115.
 18. M. S., Fernández, D. Villaño, A. M. Troncoso y M. C. García, "Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo." 2006, ALAN v.56 n.2 Caracas, pp. 110-122.
 19. WH. Wang, RL. Abeydeera, YM Han, RSPrather Y BN Day, "Morphologic evaluation and actin filament distribution in porcine embryos produced in vitro and in vivo", *Biol Reprod*. 1999 ,Apr;60,4,1020-8. doi: 10.1095/biolreprod60.4.1020. PMID: 10084980.
 20. M. Liu, Y Yin, Xi Ye, M Zeng, Q Zhao, D L. Keefe, L Liu, "Resveratrol protects against age-associated infertility in mice", *Human Reproduction*, Volume 28, Issue 3, March 2013, pp. 707–717.
 21. J. Gambini, M. Inglés, G. Olaso, R. López-Grueso, V. Bonet-Costa, L. Gimeno-Mallench, C. Mas-Bargues, KM Abdelaziz, MC Gómez-Cabrera, J. Viña, C. Borrás, "Propiedades del Resveratrol: Estudios In Vitro e In Vivo sobre Metabolismo, Biodisponibilidad y Efectos Biológicos en Modelos Animales y Humanos", *Medicina Oxidativa y Longevidad Celular*, vol. 2015, artículo ID 837042, pp.13.
 22. M. Villagrán, M. Muñoz, F. Díaz, C. Troncoso, C. Celis y L. Mardones. "Una mirada actual de la vitamina C en salud y enfermedad", *Revista chilena de nutrición*, 2019, 46(6), pp. 800-808.
 23. Serra, M., y T. Cafaro, "Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo", 2007, *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 41(4), pp.525-532.
 24. S. Coker, R. Dyson, C. Smith-Díaz, M. Vissers y M. Berry, "Effects of Low Vitamin C Intake on Fertility Parameters and Pregnancy Outcomes in Guinea Pigs", *Nutrients* 2023, 15(19), 4107; <https://doi.org/10.3390/nu15194107>

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE INSUMOS ORGÁNICOS SOBRE EL RENDIMIENTO EN EL CULTIVO DE BRÓCOLI (*BRASSICA OLERACEA ITÁLICA*)

Tarsicio Medina Saavedra, Lilia Mexicano Santoyo*, Ana Cecilia Sevin Anaya, Luis Fernando Saavedra Medina, Gabriela Arroyo Figueroa

Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Universidad de Guanajuato, Privada de Arteaga s/n, Col. Centro, C.P. 38900, Salvatierra, Gto.

*l.mexicano@ugto.mx

RESUMEN

El brócoli es una hortaliza que pertenece a las crucíferas. México ocupa el quinto lugar con el 2.69% de la producción y el segundo lugar como exportador a nivel mundial. Para la producción de brócoli se utilizan sistemas intensivos que promueven la aplicación de fertilizantes químicos que debido a su uso excesivo causan la degradación del suelo y un impacto negativo en el ambiente. Por otra parte, la agricultura orgánica ofrece una forma sostenible para el campo y la salud humana. Promueve el uso de insumos como bocashi, estiércol y biofertilizante que favorece el crecimiento y desarrollo del cultivo. El objetivo de este trabajo fue aplicar abonos orgánicos durante el crecimiento y desarrollo de la planta de brócoli y evaluar su efecto sobre el peso de la inflorescencia. Primeramente, se prepararon los abonos orgánicos (bocashi, biol y estiércol). Los tratamientos aplicados en el suelo fueron: AOS: Bocashi; AST: Estiércol; BST: plantas testigo; BSTB: biofertilizante; AOSB: bocashi + biofertilizante y ASTB: estiércol + biofertilizante. El biofertilizante fue aplicado de manera foliar cada ocho días. Al momento de la cosecha se tomó el peso de la inflorescencia de los diferentes tratamientos. Los resultados muestran que el menor peso lo presentó el tratamiento testigo BST (0.283 ± 0.19). Por otra parte, el mayor peso se obtuvo con el tratamiento AOSB (0.784 ± 0.23), sin embargo, este tratamiento es estadísticamente igual a los tratamientos AOS, AST y ASTB. De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que la aplicación de abonos orgánicos favorece a un mayor peso de la inflorescencia.

Palabras clave: Composta, bocashi, sustentabilidad

INTRODUCCIÓN

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*) es una hortaliza que pertenece a la familia Cruciferae (Moreno *et al.*, 2014). México ocupa el quinto lugar con el 2.69% de la producción mundial y el segundo lugar en exportación de brócoli con un volumen de 318,458 toneladas (SIAP, 2022). En el 2021 se produjeron 567.0 mil toneladas lo que representa 3.3% de la producción de hortalizas (CAADES, 2021). El estado de Guanajuato es el primer productor de esta hortaliza a nivel nacional con una producción de 412,826.70 ton en el año 2022. El principal destino para las exportaciones mexicanas de brócoli es hacia los Estados Unidos, exportando el 97.3%. (FAOSTAT, 2021).

El cultivo de brócoli se adapta mejor a suelos con buen drenaje, aunque puede desarrollarse en un amplio rango de texturas de suelos, con elementos nutricionales esenciales como el nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre para su desarrollo (Cárdenas, 2020), en sistemas intensivos se promueve la aplicación de fertilizantes químicos que debido a su uso excesivo causan la degradación del suelo y un impacto negativo en el ambiente, exige más insumos de productos químicos, fertilizantes y agua para mantener el rendimiento en un nivel alto, lo que afecta negativamente al ecosistema (Azarbad, 2022).

Por otra parte, la agricultura orgánica ofrece una forma sostenible para el campo y la salud humana (FAO 2019; Restrepo, 1994), es un método agrícola en el que no se utilizan fertilizantes ni plaguicidas sintéticos, como un sistema holístico que promueve y mejora el agroecosistema (SIAP, 2020), mediante el uso de insumos como bocashi, estiércol y biofertilizante que favorece el crecimiento y desarrollo del cultivo (Mendivil, 2020; Restrepo *et al.*, 2014). El objetivo de este trabajo fue aplicar

abonos orgánicos durante el crecimiento y desarrollo de la planta de brócoli y evaluar su efecto sobre el peso de la inflorescencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el invernadero de la universidad de Guanajuato, sede Mayorazgo ubicado en el municipio de Salvatierra, Guanajuato México con ubicación 20°12'45.5"N 100°52'31.1"W.

Preparación de abonos orgánicos. El abono tipo bocashi se elaboró según la metodología propuesta por Restrepo *et al.* (2014) con algunas modificaciones. Se utilizaron los insumos: 4 costales de estiércol, 3 costales de rastrojo molido, 1 costal de salvado, 1 costal de ceniza, 2 kg de cal y 2 litros de melaza. Los insumos se mezclaron hasta obtener una mezcla homogénea y se agregó agua hasta obtener una humedad de entre 50 – 60%. El bocashi fue removido durante un periodo de 15 días para controlar la temperatura y para incorporar oxígeno en la mezcla.

El biofertilizante se elaboró según la metodología de Restrepo (2017) con algunas modificaciones. Se utilizaron 3 kilos de contenido ruminal, 1 litro de melaza, 2 kilos de ceniza, 2 litros de sangre de bovino. Los insumos de disolvieron en 10 litros de agua no clorada en un tanque de plástico, bajo un sistema anaerobio.

La solarización del estiércol se realizó en pilas de aproximadamente 8 kg de estiércol cada una. Las pilas se solarizaron por 30 días (1 mes). El plástico utilizado fue de polietileno transparente de 30 micras de espesor. Las pilas se cubrieron de tal forma que los bordes quedaran sellados y el plástico quedara a pleno contacto con el abono. Lo anterior, para evitar pérdidas de humedad y temperatura.

Aplicación de tratamientos. Primeramente, se realizó la preparación del suelo donde se aplicó el abono tipo bocashi a razón de 3kg /m² y el suelo fue humedecido. Posteriormente se realizó la siembra. La semilla utilizada fue de brócoli y los tratamientos aplicados fueron los siguientes: AOS: Bocashi; AST: Estiércol; BST: plantas testigo; BSTB: biofertilizante; AOSB: bocashi + biofertilizante y ASTB: estiércol + biofertilizante. El biofertilizante fue aplicado de manera foliar cada ocho días. Al momento de la cosecha se registró el peso de la inflorescencia de cada uno de los tratamientos.

Análisis estadístico. Para el análisis de los datos se realizó un ANOVA ($\alpha=0.05$) y una prueba de Tukey para la comparación de medias entre tratamientos, utilizando el software GhradPad Prims versión 8.

Elaboración de Bocashi y Biol. El presente trabajo se llevó a cabo en el invernadero de la universidad de Guanajuato, sede Mayorazgo ubicado en el municipio de Salvatierra, Guanajuato México con ubicación 20°12'45.5"N 100°52'31.1"W.

El abono tipo bocashi se elaboró según la metodología propuesta por Restrepo *et al.* (2014) con algunas modificaciones donde se utilizaron los siguientes insumos: 4 costales de estiércol, 3 costales de rastrojo molido, 1 costal de salvado, 1 costal de ceniza, 2 kg de cal y 2 litros de melaza. Los insumos se mezclaron hasta obtener una mezcla homogénea se agregó agua hasta obtener una humedad de entre 50 – 60% realizando la prueba de puño. Por último, se removió durante un periodo de 15 días para controlar la temperatura y para incorporar oxígeno en la mezcla. Finalmente, para la determinación de N total se realizó mediante el método de Dumas y el porcentaje de K, P, Ca y Mg mediante el método de digestión en microondas/ICP.

El biofertilizante se elaboró según la metodología de Restrepo (2014) con algunas modificaciones donde se utilizaron los siguientes insumos: 3 kg de contenido ruminal, 1 L de melaza, 2 kg de ceniza, 2 L de sangre de bovino y 2 kg zanahoria. Los insumos de disolvieron en 10 litros de agua no clorada en un tanque de plástico, bajo un sistema anaerobio. Finalmente se midió la concentración de N, P, K, Ca y Mg mediante un fotómetro multiparamétrico marca HANNA, modelo H183325.

Preparación del estiércol. La solarización del estiércol se realizó en pilas de aproximadamente 8 kg de estiércol cada una. Las pilas se solarizaron por 30 días (1 mes). El plástico utilizado fue de

polietileno transparente de 30 micras de espesor. Las pilas se cubrieron de tal forma que los bordes quedaran sellados y el plástico quedara a pleno contacto con el abono. Lo anterior, para evitar pérdidas de humedad y temperatura.

Aplicación de tratamientos. Primeramente, se realizó la preparación del suelo donde se aplicó el abono tipo bocashi a razón de 3 kg /m² y el suelo fue humedecido. Posteriormente se realizó la siembra. La semilla utilizada fue de brócoli y los tratamientos aplicados fueron los siguientes: AOS: Bocashi; AST: Estiércol; BST: plantas testigo; BSTB: biofertilizante; AOSB: bocashi + biofertilizante y ASTB: estiércol + biofertilizante. El biofertilizante fue aplicado de manera foliar cada ocho días y al momento de la cosecha se registró el peso de la inflorescencia de cada uno de los tratamientos.

Análisis estadístico. Para el análisis de los datos se realizó un ANOVA ($\alpha=0.05$) y una prueba de Tukey para la comparación de medias entre tratamientos, utilizando el software GhradPad Prims versión 8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aporte de nutrientes por parte de los abonos orgánicos. El cultivo del brócoli necesita de los elementos nutricionales esenciales para su desarrollo. Estos nutrientes esenciales se pueden dividir en macronutrientes primarios (nitrógeno, fósforo y potasio), macronutrientes secundarios (magnesio y Calcio) dependiendo de la capacidad de captar cada uno de ellos, conocer el requerimiento nutricional del brócoli es de gran importancias porque nos permite conocer el estado nutrimental a lo largo del desarrollo del cultivo y ayuda en el ajuste de los programas de nutrición que se establecen desde el inicio del cultivo para hacerlos eficientes y poder lograr la máxima productividad (Zamora, 2020).

El bocashi incorpora al suelo materia orgánica y nutrientes esenciales como: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, cobre y boro, los cuales mejoran las condiciones físicas y químicas del suelo (Restrepo, 1994). En la Tabla 7.1 se presentan las concentraciones de los nutrientes principales contenidos en el bocashi.

Tabla 1. Concentración de los principales nutrientes en el Bocashi

Nutriente	Concentración (%)
Calcio	3.47
Magnesio	0.75
Potasio	2.33
Fósforo	0.61
Nitrógeno	1.39

Arrieta *et al.* (2018) reportan concentraciones de 0.07 % para Ca, 0.98 % para N, 0.59 % para Mg, 0.61 % para K y 0.74% y Mendivil *et al.* (2020) encontraron valores de 2.01% para Ca, 0.5% para Mg, 4.29% para K, 0.01% para N y 2.02 % para P en bocashi. Los resultados difieren con los encontrados en el presente trabajo para el ion Ca ya que los obtenidos en el presente trabajo son mayores con respecto a las investigaciones antes mencionadas. Para el ion K la concentración de este elemento es menor a lo reportado por Mendevil *et al.* (2020). Para Mg los valores encontrados estuvieron por encima de los reportados por dichas investigaciones. En cuanto al P, este valor fue similar al reportado por Mendevil *et al.* (2020). Al respecto, Leblanc *et al.* (2005) señala que los valores de nutrientes encontrados en abonos orgánicos tipo bocashi presentan valores más altos (10 ton/ha) o más bajos (4.5 ton/ha) debido a que son elaborados con diferentes tipos de insumos, según se encuentren accesibles en cada región.

En cuanto al biol, se ha informado que es una fuente de fitoreguladores que al ser aplicado a las semillas y al follaje de los cultivos, permite aumentar la cantidad de raíces e incrementa la cantidad de fotosíntesis de las plantas, mejorando substancialmente la producción y calidad de las cosechas (Medina & Solari, 1990). Se ha reportado que el biol contienen macronutrientes tales como Nitrógeno

(N), Fosforo (P) y Potasio (K), que son elementos necesarios en la nutrición vegetal (Cabos *et al.*, 2019). En la Tabla 7.2 se presentan las concentraciones de los nutrientes principales contenidos en el biol.

Tabla 7. 1. Concentración de iones de los principales nutrientes en el biofertilizante.

Biol	Nutrientes	Rango del fotómetro	Volumen de la disolución	Concentración final de iones en el biol
	Calcio	0 -400 ppm	3 mL	800
	Magnesio	0 -150 mg/L	0.5 mL	450
	Potasio	0 -20 ppm	10 mL	520
	Fosforo	0 -30 ppm	10 mL	780
	Nitrógeno			SD

SD= Sin dato

Al respecto, Arteaga *et al.* (2007) reportan valores de 800 iones para Ca, 486 iones para Mg, 737.5 iones para K y 189.16 iones de P. Estos valores son similares a los encontrados en el presente trabajo. Algunas investigaciones como la de Cabos *et al.* (2019) comentan que las características del biol dependen del tipo de estiércol utilizado y la dilución, además de que su calidad dependerá de los días de retención que tenga en el sistema. Por otra parte, Jara *et al.* (2021) informan que no hay valores de referencia para establecer la calidad, sin embargo, la composición nutrimental puede variar en función de los sustratos de origen y los parámetros de operación utilizados en la digestión.

Peso de la inflorescencia en plantas de brócoli tratabas con abonos orgánicos. En la Figura 2 se observa que el menor peso lo presentó el tratamiento testigo BST (0.283 ± 0.19) siendo este tratamiento estadísticamente diferente a los demás tratamientos ($p > 0.05$). Por otra parte, el mayor peso se obtuvo con el tratamiento AOSB (0.784 ± 0.23), sin embargo, este tratamiento es estadísticamente igual a los tratamientos AOS, AST y ASTB. Los resultados muestran que la aplicación de insumos orgánicos influye en el peso de la inflorescencia de manera favorable.

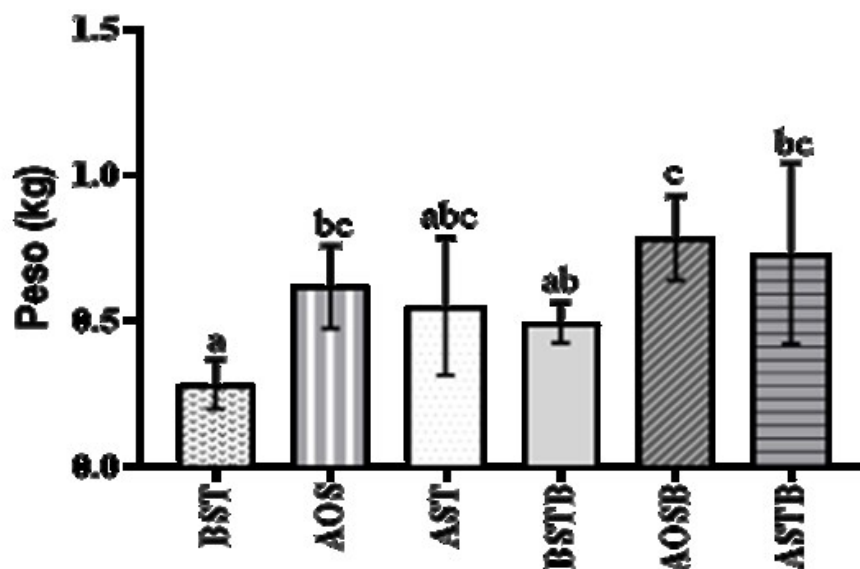


Figura 2. Peso de la inflorescencia de plantas de brócoli tratadas con BST, AOS, AST. BSTB, AOSB y ASTB.

Arellano-Arciniega *et al.* (2015) comentan que al aplicar estiércol en tres dosis 0,10 y 20 t/ha se obtuvo un rendimiento promedio de frijol por hectárea de 132,200 kg para Flor de Junio Dalia y 131,059 kg para Pinto Coloso. En ambos experimentos, las dosis de estiércol mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para la densidad de plantas, número de vainas por planta y el peso de cien semillas. Por otra parte, Betancourt *et al.* (2021) destacaron que la adición de estiércol en dosis de 0, 40, 80 y 120 t/ha no afectó el número de frutos por planta ni el peso y que estos resultados podrían estar relacionado con el efecto del conjunto de promotores de fitohormonas presentes en el estiércol aplicado. De acuerdo con Grande *et al.* (2011) observó una tendencia favorable al usar extracto líquido de estiércol de bovino en el cultivo de jitomate ya que se obtuvieron valores mayores en las variables de rendimiento y peso en un 13 % con respecto al testigo.

Guido (2019) obtuvo diferencias estadísticas significativas para el peso del fruto (26.4 gr) en el cultivo de fresa con el tratamiento de bocashi a razón de 8 t/ha y microorganismos eficientes comerciales a razón de 1L/t aplicados al bacashi inmediatamente después de su incorporación al suelo. Por otro lado, Boudet (2017) obtuvieron que al aplicar 2.33, 2.66 y 2.99 t/ha de bocashi en el cultivo de tomate se obtuvo un mayor peso al aplicar 2.99 t/ha de bocashi con diferencias estadísticas significativas con respecto a las demás dosis aplicadas y un 23% más alto con respecto al control. A su vez Girón (2018) reporta un mayor peso y rendimiento en espinaca, lechuga y remolacha al aplicar composta+bocashi con respecto al tratamiento testigo.

Callizaya (2017) informa que al aplicar 5% de biol en el cultivo de pepino se obtuvo el mayor peso (20.385 kg) con respecto a los tratamientos 15% y 25% de biol. A su vez, Aguilar (2008) en el cultivo de pimientos registró un peso de los frutos superior con la aplicación de 5% de biol con un peso de 16 398 kg, sin embargo, el rendimiento fue inferior con los tratamientos biol a 2.2% y 4%. Zurita y Toalombo (2014) para el cultivo de moras encontró que el tratamiento de biol B2 (biol con estiércol de cuy) y la frecuencia de aplicación de cada 14 días (A2) obtuvo que el peso del fruto mejoro significativamente (45.9 Kg) el tipo de biol y la frecuencia apropiada para la aplicación contribuye al desarrollo de la agricultura.

En el presente trabajo los resultados obtenidos son similares a las investigaciones antes mencionadas por lo tanto se concluye que la aplicación de insumos orgánicos en la producción orgánica favorece a la obtención de un mejor rendimiento en peso del cultivo de brócoli.

CONCLUSIÓN

La correcta preparación de los fertilizantes orgánicos es de suma importancia para proporcionar suficientes nutrientes a los cultivos. Estos insumos orgánicos representan una alternativa para incrementar el rendimiento en peso del fruto, por lo que su aplicación puede ser utilizada para mejorar la producción del brócoli y disminuir el uso de fertilizantes químicos.

REFERENCIAS

1. Arellano-Arciniega, S.; Osuna-Ceja, E. S.; Martínez-Gamiño, M. A., y Reyes-Muro, L. (2015). Rendimiento de frijol fertilizado con estiércol de bovino en condiciones de secano. *Revista fitotecnica mexicana*, 38(3), 313-318.
2. Arteaga, M.; N. Garcés, R.; Novo, F.; Guridi, J.; Pino, M. Acosta, M.; Pasos y Besú. D. (2007). Influencia de la aplicación foliar del bioestimulante Liplantsobre algunos indicadores biológicos del suelo. *Revista Protección Veg.* Vol. 22 No. 2 (2007): 110-117. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522007000200007.
3. Labarca, RA.; González, G. LG; González P. OS.; y Arteaga, J.A. (2018). Caracterización del abono Bocachi y su aplicación en el cultivo del pimentón (*Capsicum annum*, L.), en el estado Falcón. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, vol. 3, núm. 6, pp. 109-127.

4. Azarbad H. (2022). Conventional vs. Organic Agriculture-Which One Promotes Better Yields and Microbial Resilience in Rapidly Changing Climates? *Frontiers in microbiology*, 13, 903500. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.903500>.
5. Boudet, A.; Boicet, T.; Durán, R.; y Meriño, Y. (2017). Efecto sobre el tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de diferentes dosis de abono orgánico bocashi en condiciones agroecológicas. *Centro Agrícola*, 44(4), 37-4.
6. CAADES. 2021. Confederación de Asociaciones Agrícolas del Estado de Sinaloa "México como exportador de brócoli" <http://www.caades.org.mx>.
7. Cabos, J.; Bardales, C.; León, C. y Gil, L. (2019). Evaluación de las concentraciones de Nitrógeno, Fósforo y Potasio del biol y biosol obtenidos a partir de estiércol de ganado vacuno en un biodigestor de geomembrana de policloruro de vinilo. *Arnaldoa*, 26(3):1165-1176. doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26321.
8. Callizaya, S. (2017). Efecto de la aplicación de biol sobre el comportamiento productivo del Pepino (*Cucumis sativus*, L.) bajo condiciones de carpa solar. Tesina de grado. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía, Carrera de Ingeniería en Producción y Comercialización Agropecuaria, 58 pp. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/5720/1/TS-075.pdf>
9. Cadenas, A. 2017. La Agricultura Sostenible. Un futuro en armonía entre el campo y el medio ambiente. Servicio Agrario Medioambiental del Banco Central Hispánico
10. FAO, (2021). Datos sobre alimentación y agricultura "Cultivo de brócoli" Food and Agriculture Organization of the United Nations <https://www.fao.org/faostat>
11. FAO. (2019). "Que es la agricultura orgánica". Disponible en: <http://www.fao.org/3/ad818s/ad818s03.htm>
12. Girón, C.; Olmedo, M.; Monterroza, D.; Aguirre, C.; Juárez, H. y Lara, A., (2018). Influencia de la aplicación de bocashi y lombriabono en el rendimiento de calabacín (*Cucurbita pepo* L.), espinaca (*Spinacia oleracea* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y remolacha (*Beta vulgaris* L.), bajo el método de cultivo biointensivo, San Ignacio, Chal. Vol. 1 Núm. 03 (2018).
13. Jara, j.; Gallegos, J.; y Cruz, A. (2021). Elaboración y caracterización de vióles de residuos orgánicos. *InterSedes*. 22(45): 189-203. [Doi.org/10.15517/isucr.v22i45.46013](https://doi.org/10.15517/isucr.v22i45.46013).
14. Leblanc, SJ; Leslie, KE y Duffield, TF. (2005). Metabolic Predictors of Displaced Abomasum in Dairy Cattle. *J Dairy Sci*; 88:159-170.
15. Medina, V. y Solari, E. (1990). El BIOL fuente de Fitoestimulante en el desarrollo agrícola. Programa especial de Energías UMSS-GTZ. Cochabamba, Bolivia: impresiones poligráficas.
16. Mendiivil-Lugo, C.; Nava-Pérez, E.; Armenta-Bojórquez, A.; Ruelas-Ayala, D.; Rey D. y Félix-Herrán, J. (2020). Elaboración de un fertilizante orgánico tipo bokashi y su evaluación en la germinación y crecimiento del rábano. *Biotecnología*, 22 (1), 17-23. Publicación electrónica del 3 de agosto de 2020. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1120>.
17. Moreno, DA; Carvajal, M.; López, L. C. y García, V. (2006) Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J Pharm Biomed Anal*. 41(5):1508-1522 DOI: 10.1016/j.jpba.2006.04.003.
18. Restrepo, J. (1994). Abonos fermentados experiencias de agricultores en Centroamérica y Brasil. San José, Costa Rica: OIT.
19. Restrepo, J. M.; Gómez, J. y Escobar, R. (2014). Utilización de los residuos orgánicos en la agricultura. Editado por la Fundación para la investigación y desarrollo agrícola (FIDAR), Official Development Assistance (ODA) y Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Colombia-Japón.
20. SIAP. 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. "La agricultura orgánica en México". <https://nube.siap.gob.mx/>
21. SIAP. 2022. "Avance de Siembras y Cosechas" SERVICIO DE INFORMACION AGROALIMENTARIA Y PESQUERA. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do.

IMPACTO DE UN EFLUENTE ANAERÓBICO Y DE UN CONSORCIO BACTERIANO EN LA PRODUCCIÓN ACELERADA DE LOMBRICOMPOSTA

Graciela M.L. Ruiz-Aguilar ^{1*}, Elsa A. Guerrero Cornejo ², Víctor Olalde-Portugal ³,
Sergio J. Alejo López ⁴, Héctor Gordon-Núñez ⁵, Rafael A. Veloz-García ⁶

^{1,2,5} División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, ³ Departamento de Bioquímica y Biotecnología, CINVESTAV Campus Guanajuato, ^{4,6} División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Universidad de Guanajuato.

gracielar@ugto.mx

RESUMEN

La utilización de biofertilizantes sólidos como alternativa a los productos químicos para evitar la degradación del suelo es crucial. Se ha explorado el uso de efluentes de biodigestores anaeróbicos como fertilizantes, aunque presentan riesgos como la presencia de patógenos y metales pesados, así como el consumo de agua potable. En este estudio, se examinó la adición de efluente de biodigestor anaeróbico y un consorcio bacteriano lignocelulósico a un sistema de lombricompostaje para reducir el tiempo de proceso. El diseño experimental constó de dos etapas: precompostaje y lombricompostaje, con la adición del consorcio bacteriano en cada una. En la primera etapa, se prepararon cuatro camas de composta con estiércol crudo de vaca, dos regados con agua potable y dos con digerido anaeróbico. En la segunda etapa, se crearon cuatro tratamientos con material de precompostaje y 50 lombrices, manteniendo la irrigación según la primera etapa. El consorcio bacteriano demostró reducir eficazmente el tiempo de producción de la lombricomposta en casi un 30%, siendo más efectivo en el precompostaje. Las actividades hidrolíticas fueron superiores con la adición bacteriana en el precompostaje, aunque con una correlación inversa con el ácido húmico. Además, la composta regada con efluente mostró calidad similar al agua potable. Esta combinación de efluente anaeróbico y consorcio bacteriano representa una alternativa prometedora para reducir el tiempo del proceso de lombricompostaje, abordando la mejora de la calidad del suelo, el aumento en la producción de alimentos y mejorar la calidad nutricional. Se destaca el papel crucial de las bacterias en la descomposición y la calidad de la composta, además de su importancia para la gestión sostenible de residuos orgánicos. Este enfoque tiene implicaciones positivas para la agricultura, la seguridad alimentaria, y para la conservación del agua. En conclusión, este estudio establece las bases para futuras investigaciones y prácticas agrícolas que integren eficazmente bacterias y efluentes de biodigestores en sistemas de gestión de residuos y mejora de suelos, ofreciendo una solución práctica y sostenible para los desafíos actuales en la agricultura y el medio ambiente.

INTRODUCCIÓN

Los campos son afectados por la fertilización química y los procesos agrícolas, provocando grandes áreas de sequía en México. Se reportó la degradación química del suelo debido a la sobre-fertilización en aproximadamente 34 millones de hectáreas, y cerca del 92.7% de estas tierras perderán su fertilidad para la producción de cultivos (SEMANART, 2012). Esta situación requiere un cambio en los procesos agrícolas hacia prácticas más sostenibles. La combinación de diferentes tecnologías junto con la utilización de residuos podría servir como una alternativa para mejorar la calidad del suelo. Una de estas alternativas es el uso de fertilizantes biológicos sólidos como el compost y los productos de lombricompostaje. Estos últimos podrían aumentar la materia orgánica en el suelo y mejorar las características fisicoquímicas del mismo, lo que llevaría a la conservación y fertilización del suelo (Barbado, 2003; Yuvarah et al., 2021). Además, la utilización de efluentes de biodigestores anaeróbicos en procesos de compostaje podría servir como fertilizantes por su significativo contenido de nutrientes orgánicos e inorgánicos, como nitrógeno y fósforo. Se ha informado que los microorganismos del suelo aumentan sus actividades cuando se utilizan efluentes anaeróbicos para fines de irrigación (Meli et al., 2002; Ramírez-Fuentes et al., 2002). Sin embargo, la utilización del efluente de la digestión anaeróbica ha sido identificada con varios factores de riesgo que podrían afectar la producción de cultivos, como la salinidad del suelo, la presencia de virus, bacterias, protozoos, metales pesados o compuestos farmacéuticos activos (Potlala y Chandrashekhar, 2020;

Toze, 2005). No obstante, no se ha reportado la combinación del proceso de lombricompostaje y los efluentes de biodigestores anaeróbicos. El lombricompostaje podría ayudar a reducir el efecto colateral de los efluentes mediante la oxidación y estabilización de la materia orgánica (Fracchia et al., 2006; Lazcano et al., 2008). Ciertos microorganismos son eliminados en el sistema digestivo del gusano (Edwards y Fletcher, 1988). El tiempo de producción de lombricompostaje es a menudo largo cuando se trabaja con estiércoles, ya que estos deben estabilizarse previamente al proceso de lombricompostaje, añadiendo aproximadamente un mes a este propósito (Romero y Ferrara-Cerrato, 2002). Esto podría ser una desventaja para los productores de lombricompostaje. Además, el agua potable valiosa podría ser reemplazada con efluente de biodigestor anaeróbico durante el proceso de compostaje, reduciendo el consumo de agua potable. Por lo tanto, este artículo reporta los resultados de la adición de efluente de digestión anaeróbica a un proceso de lombricompostaje y la mejora concomitante de los procesos de compostaje utilizando un consorcio bacteriano lignocelulolítico.

PARTE EXPERIMENTAL

Sitio experimental

Los experimentos de campo se llevaron a cabo en el Área Experimental para la Sostenibilidad de la División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, en la Universidad de Guanajuato, ubicada en "El Copal"-Irapuato, Guanajuato, México (latitud 20°44'36.0"N, longitud 101°20'20.7"W, altitud 1,750 m). Esta área experimental cuenta con un biodigestor anaeróbico (volumen operativo de 1,000 L) alimentado con estiércol de vaca, y sus efluentes se utilizaron para todos los experimentos. Su caracterización se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización del efluente del biodigestor anaerobio empleado durante el experimento.

Parámetro	Influente	Efluente
DQO (mg/L)	7,914.00	5,441.33
pH	9.40	8.27
Contenido de nitrógeno (NT %)	4.32	1.63
C:N ratio	1,831.90	8,120.00

Los datos mostrados son el promedio de los valores de todas las muestras analizadas durante los experimentos.

Consortio bacteriano

Cepas aisladas de *Cellulosimicrobium cellulans*, *Bacillus subtilis* 334, *Bacillus subtilis* 224, *Bacillus subtilis* 121 y *Bacillus* sp. se cultivaron en medio líquido de dextrosa de papa a 37°C durante 48 horas. Todas ellas fueron aisladas y donadas por el Laboratorio de Bioquímica Ecológica del CINVESTAV-IPN, Campus Irapuato, con actividad lignocelulósica comprobada. El consorcio se preparó utilizando una relación 1:1 (v/v) de cada cepa en el momento del experimento. El inóculo utilizado para cada experimento fue de 3×10^4 células del consorcio bacteriano.

Diseño experimental

Se realizaron dos experimentos para demostrar el efecto de la combinación del consorcio bacteriano y el efluente anaeróbico. Ambos diseños experimentales se construyeron en dos etapas: precompostaje y procesos de lombricompostaje. En el primer experimento, el consorcio se añadió al inicio de la etapa de lombricompostaje y en el segundo experimento, se inoculó con el consorcio bacteriano en la etapa de precompostaje.

El primer experimento duró 105 días y el segundo experimento 60 días; ambos estuvieron expuestos a condiciones ambientales. Además, el segundo experimento se realizó durante una temporada de lluvias, ya que esto podría interferir con el experimento; todos los contenedores se colocaron bajo un espacio cubierto abierto en el Área Experimental para la Sostenibilidad. Esto requirió el uso de contenedores más pequeños para ajustarlos en ese espacio, pero las proporciones se conservaron.

Descripción de las camas

Para ambos experimentos, en la primera etapa, se prepararon cuatro camas con 60 Kg de estiércol de vaca crudo cada una. Dos de ellas fueron irrigadas con agua potable y las otras dos con efluente de biodigestor anaeróbico. La irrigación se realizó diariamente con 1.0 L de agua o efluente dependiendo del tratamiento. Cada cama fue cubierta con paja de sorgo y se volteó una vez a la semana para propósitos de aireación durante el proceso de compostaje.

Cuando el contenido de ácido húmico fue constante, se estableció la segunda etapa (49 días y 26 días para el primer y segundo experimento respectivamente). Se prepararon cuatro tratamientos en triplicado en contenedores con material precompostado, 5.0 Kg para el primer experimento y 1.0 Kg para el segundo experimento. Todas las camas fueron humedecidas ya sea con agua potable o efluente de digestión anaeróbica dependiendo del tipo de cama (se utilizaron 500 mL para el primer experimento y 100 mL para el segundo experimento). También, fueron cubiertas con paja de sorgo (80 g o 16 g, respectivamente) para reducir la evaporación. Cada cama fue suplementada con 20 lombrices adultas *Eisenia fétida*.

Se tomaron muestras iniciales y finales en cada etapa para determinar el pH, la conductividad eléctrica, la humedad, el contenido de carbono orgánico y de nitrógeno. La cantidad de material extraída fue reemplazada con material fresco para mantener la cantidad inicial. En todos los casos, los contenidos de ácidos húmicos (HA) y fúlvicos (FA) se evaluaron semanalmente para cada etapa de acuerdo con el método descrito por Sánchez-Monedero et al. (1996). Además, la materia orgánica se determinó al inicio y al final de cada etapa mediante el método de ignición (Mook y Hoskin, 1982). El contenido de nitrógeno (TN) se calculó mediante el método de Kjeldahl, de acuerdo con la legislación mexicana para productos de composta (NOM-021-SEMARNAT-2000). El pH se midió según el método AS-02, las densidades real y aparente (AD) se evaluaron basándose en el método AS-04, y la conductividad eléctrica (EC) basándose en el método AS-18 como se especifica en la legislación mexicana (NOM-021-SEMARNAT-2000). La humedad (H) se determinó en una termobalanza OHAUS utilizando 0.5 g de muestra semanalmente. El número de bacterias se estimó utilizando una cámara de Neubauer. Se realizó un análisis estadístico de los datos comparando los resultados de ambos experimentos utilizando el software Statgraphics Centurion XV.

Las actividades enzimáticas se evaluaron semanalmente para peroxidasa dependiente de manganeso y lacasa. Un gramo de material se mezcló con 5 mL de tampón de succinato de sodio durante 30 minutos a 150 rpm (da Luz et al., 2013). Se tomaron dos alícuotas de 1.0 mL cada una y se colocaron en tubos Eppendorf y se centrifugaron a 10,000 rpm durante 5 minutos. Las muestras se congelaron a -20 °C hasta su análisis. La actividad de la peroxidasa dependiente de manganeso se determinó utilizando el método de Kuwahara et al., (1984). Se realizó la parte lineal (Absorbancia-Tiempo) y a partir de la pendiente, se estimó la cantidad de Mn(III) producido por minuto, definiendo 1U como 1.0 μmol de Mn(II) oxidado a Mn(III) por minuto. La actividad de la lacasa se midió de acuerdo con Liu et al. (2009) y su actividad se definió como la cantidad de enzima que oxida 1.0 μmol de ABTS por minuto. Los análisis fisicoquímicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Tecnologías para la Sustentabilidad® (LATESUG®) de la División de Ciencias de la Vida, la Universidad de Guanajuato, y los análisis de enzimas se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica Ecológica del CINVESTAV-IPN, Campus Irapuato.

RESULTADOS

Densidad aparente

Las normativas mexicanas establecen límites para el parámetro de densidad aparente (AD) entre 0.4 y 0.9 g/mL. En el primer experimento (inoculación bacteriana en la fase de lombricompostaje) se obtuvieron valores inferiores a los establecidos al final de la fase de lombricompostaje (Tabla 2). En el segundo experimento (inoculación bacteriana en la fase de precompostaje) se observó un aumento significativo en la AD de 0.2 g/mL hasta 0.5 g/mL. Según Olivares-Campos et al. (2012), una baja AD indica que el suelo tendrá menor compactación y mayor porosidad. Los resultados obtenidos en el segundo experimento estuvieron dentro de los estándares mexicanos y mostraron la misma tendencia que la obtenida por Atiyeh et al. (2001), donde la densidad aumenta a medida que pasa el tiempo para una lombricomposta elaborada con estiércol de cerdo.

Tabla 2. Valores fisicoquímicos de las mediciones del precompostaje y del lombricompostaje al final de cada etapa experimental.

		AD (g/mL)	TN (%)	OM (%)	C/N ratio	H (%)	pH	EC (dS/m)
Valores acuerdo a legislación Mexicana*		la 1 to 4 (base seca)	0.4 to 0.9	20 to 50 (base seca)	≤ 20	20 to 40 (materia húmeda)	5.5 to 8.5	≤ 4
Primer Experimento								
Proceso de pre-compostaje	WWB _i	0.18	0.26	94.60	228.65	80.03	9.4	5.41
	WWB _f	0.13	0.09	83.64	349.43	69.33	9.3	0.02
	EWB _i	0.18	0.26	94.60	228.65	80.03	9.4	5.41
	EWB _f	0.19	0.16	69.05	254.76	62.68	9.8	0.02
Proceso lombricomposta (adición de bacterias)	WWB	0.09	0.54	0.54	64.86	68.65	9.6	0.01
	WB	0.10	0.68	0.68	73.10	66.34	9.7	0.01
	EWB	0.08	0.35	0.35	123.33	60.89	10.1	0.02
	EB	0.09	0.35	0.35	120.65	64.63	10.1	0.02
Segundo Experimento								
Proceso de pre-compostaje (adición de bacterias)	WWB _i	0.24	1.80	89.39	28.86	70.95	8.3	0.02
	WWB _f	0.25	1.91	85.63	25.96	63.21	9.5	0.01
	WB _i	0.24	1.80	89.39	28.86	70.95	8.3	0.02
	WB _f	0.32	1.54	84.95	31.99	55.95	9.5	0.01
	EWB _i	0.24	1.80	89.39	28.86	70.95	8.3	0.02
	EWB _f	0.25	1.63	84.92	30.16	67.58	9.8	0.01
	EB _i	0.24	1.80	89.39	28.86	70.95	8.3	0.02
	EB _f	0.27	1.52	85.98	32.88	68.98	9.9	0.01
Proceso de lombricomposta	WWB	0.43	1.72	84.90	28.62	64.34	9.6	0.01
	WB	0.49	1.28	85.08	38.63	59.17	9.7	0.01
	EWB	0.41	1.77	85.17	27.95	68.17	10.15	0.01
	EB	0.43	1.21	85.88	41.26	54.87	10.25	0.02

*NMX-ff-109-SCFI-2007

WWB = Agua sin bacterias; WB = Agua con bacterias; EWB = Efluente sin bacterias; EB = Efluente con bacterias; i= Inicio; f= Final. dS= deci Siemens

Nitrógeno total y materia orgánica

En el primer experimento, el nitrógeno total disminuyó durante la fase de precompostaje y aumentó en la fase de lombricompostaje (Tabla 2), los tratamientos mostraron valores por debajo de la especificación de al menos el 1% y hasta el 4%, alcanzando valores solo entre 0.35 y 0.68% de TN. En el segundo experimento, la cantidad de nitrógeno fue mayor que en el primer experimento, resultando dentro de los límites de la regulación mexicana (1.21-1.77%). En ambos experimentos se encontró una disminución en el porcentaje de nitrógeno al inicio de la etapa de lombricompostaje. Esto puede atribuirse a que el contenido de nitrógeno en el estiércol estaba fuera de la norma desde el principio, especialmente en el primer experimento. Esto muestra la misma tendencia reportada por Contreras Escamilla (2005), sin embargo, alcanzaron un valor menor de 1.8 veces el TN para estiércol de vaca, en comparación con nuestra investigación.

Los porcentajes de materia orgánica fueron similares para ambos experimentos (Tabla 2). Los valores obtenidos estaban por encima de los límites establecidos por la normativa mexicana (NMX-FF-109-SCFI-2007), están entre el 20 y el 50% en base seca. Se observó claramente que los tratamientos irrigados con efluente se mantuvieron por debajo de los que fueron irrigados con agua en el primer experimento (12.1% y 8.7% menos sin bacterias EWB y con bacterias EB, respectivamente), mostrando que el factor de riesgo puede tener un efecto en la variable materia orgánica. En el segundo experimento, se observó el mismo efecto ya que los valores finales fueron muy similares (84.9 - 85.9%). Los resultados mostraron una disminución desde el inicio con respecto al final. Según Albanell et al. (1988), el porcentaje de materia orgánica en una lombricomposta elaborado a partir de estiércol disminuye aproximadamente un 47%, sin embargo, los valores obtenidos en esta investigación estuvieron por encima del 54.7%.

Relación C:N

La relación carbono:nitrógeno (C:N) debe ser menor o igual a 20 según las regulaciones mexicanas; sin embargo, en ambos experimentos los valores de los tratamientos se situaron por encima al final del experimento (Tabla 2). Los valores del primer experimento son altos debido al bajo porcentaje de nitrógeno obtenido al final del experimento. Los valores más altos fueron para los tratamientos con efluente sin bacterias EWB (47.4% por encima en comparación con el tratamiento irrigado con agua sin bacterias WWB) y el tratamiento con efluente con bacterias EB (39.4% por encima en contraste con el tratamiento irrigado con agua y con bacterias WB). Esto puede atribuirse al bajo porcentaje de nitrógeno obtenido durante la experimentación.

En el segundo experimento, los valores estuvieron más cerca del límite establecido por la regulación (relación C:N = 20). Los tratamientos con bacterias mostraron los valores más altos de la relación C:N (EB 41.3% y WB 38.6% por encima), mientras que los tratamientos sin bacterias fueron muy similares independientemente de si fueron irrigados con agua o efluente (WWB 28.6% y EWB 27.9%) (Tabla 2). Sin embargo, los valores obtenidos fueron más bajos en comparación con el primer tratamiento. Esta diferencia se atribuye al contenido de TN; este parámetro fue más alto al final del experimento.

Se ha encontrado que un compost con alta C:N puede causar inmovilización de nitrógeno y aquellos con baja C:N podrían causar toxicidad por amoníaco (Hoitkin y Boehm, 1999; Patola y Chandrashekhar, 2020). Por lo tanto, es posible que la inoculación bacteriana en la fase de lombricompostaje (primer experimento), genere material que podría inmovilizar el nitrógeno presente en el suelo. El consorcio bacteriano tiene un efecto en la relación C:N, ya que los tratamientos que no fueron inoculados demostraron relaciones C:N más cercanas a lo requerido por la norma.

Humedad, pH y conductividad eléctrica

La Tabla 2 muestra que los porcentajes de humedad en los diferentes tratamientos están por encima del límite establecido por las regulaciones mexicanas, que debe ser del 20 al 40% para la lombricomposta terminado (NMX-FF-109-SCFI-2007). Se ha informado que, en el caso de las compostas con paja, los porcentajes de humedad alcanzan valores superiores al 55% (Dominguez y Edwards, 2011) y 65% (Nengwu, 2007). Los tratamientos incorporaron paja de sorgo en el sistema, por lo que el contenido de humedad obtenido coincide con lo reportado en la literatura (Dominguez y Edwards, 2011; Nengwu, 2007).

En general, los valores de pH fueron más altos para la etapa de precompostaje en comparación con el proceso de lombricompostaje para ambos experimentos (Tabla 2). El pH se mantuvo un 9.4-18.8% por encima de los límites propuestos por la norma para el lombricompostaje para el primer experimento y un 12.9-20.6% para el segundo experimento (Tabla 2). Las compostas comerciales muestran un pH alrededor de 7 (Romero et al., 2001) y en estos experimentos los resultados estuvieron fuera del límite. Esto se atribuyó al agua disponible para la experimentación que mostró valores por encima de neutro y afectó el proceso. Sin embargo, esto no afectó la calidad de la composta al final de los experimentos.

La conductividad eléctrica (CE) indica la salinidad del suelo y, por lo tanto, una lombricomposta con valores superiores a 4 dS/m podría afectar al suelo. En general, se observó que el contenido de CE disminuyó durante el experimento, alcanzando los valores permisibles (con una disminución del 99.8%; Tabla 2).

Contenido de materia orgánica

En este estudio, el contenido de materia orgánica (OM) mostró un comportamiento similar al observado para la CE en el primer experimento, donde los valores disminuyeron al 99.6%. Para el segundo experimento, los valores se mantuvieron similares a los encontrados al inicio del experimento, con una ligera modificación de la OM (1.0-5.0% en comparación con las condiciones iniciales; Tabla 2). Los valores están por encima de la regulación mexicana hasta en un 78.8% para el segundo experimento. Esto es muy diferente de lo reportado por Wong et al. (1997) y Sharma (2003) para composta de residuos sólidos municipales, donde se demostró un aumento gradual en

la CE debido a la pérdida de materia orgánica y la liberación de sales minerales en formas disponibles.

Contenido de Ácidos Húmicos y Fúlvicos

Durante las fases de precompostaje y lombricompostaje, se determinaron los porcentajes de ácidos húmicos (HA) y fúlvicos (FA). En el primer experimento, se observó que durante la fase de precompostaje, el contenido de HA disminuía y aumentaba a lo largo de la fase de lombricompostaje (Figura 1A). El contenido de HA mostró el valor más alto a los 14 días de compostaje para las camas irrigadas con agua durante el proceso de precompostaje y 12 días después para las camas con efluente de digestión anaeróbica (Figura 1A). Sin embargo, sus niveles se redujeron durante el proceso de lombricompostaje, mostrando el efecto de la irrigación con efluente (EWB y EB) en comparación con aquellos que solo recibieron agua (WWB y WB). Dado que la mayor cantidad de HA se observó en el día 20, durante la etapa de precompostaje, se decidió llevar a cabo el segundo experimento hasta este día y observar si el consorcio bacteriano también presenta el mismo comportamiento para la producción de HA y FA durante la etapa de precompostaje.

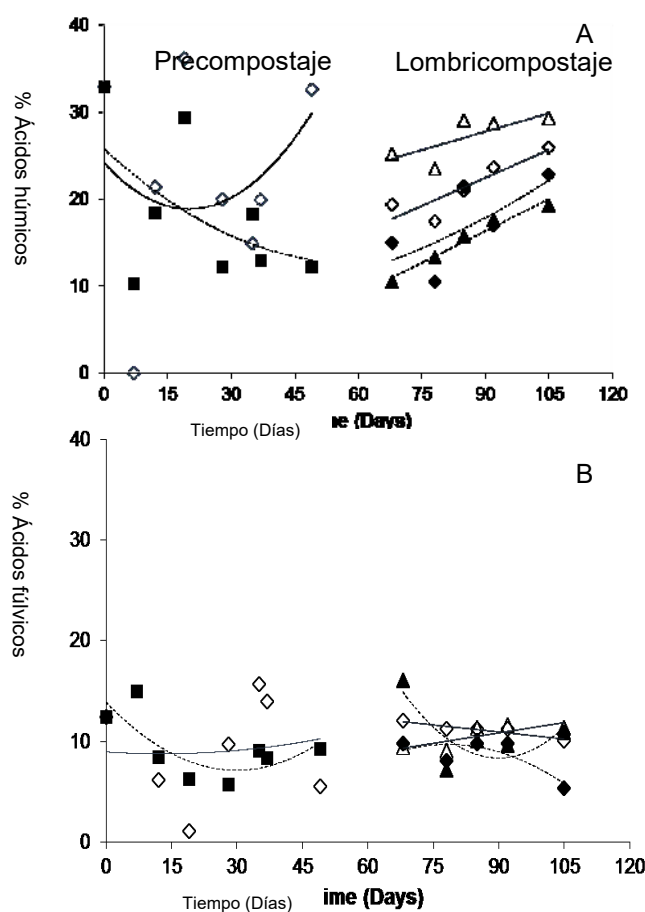


Figura 1. Porcentaje de ácido húmico (A) y ácido fúlvico (B) durante el proceso de compostaje en el primer experimento donde las bacterias se adicionaron al inicio del proceso de lombricompostaje. ○—WWB; △—WB; ◇—EWB; ▲—EB

En el segundo experimento, donde se añadió el consorcio bacteriano desde el inicio del proceso, se observó que el contenido de HA alcanzó su máxima acumulación en el día 14 en aquellas camas irrigadas con agua en la etapa de precompostaje (WWB y WB, Figura 2A). Mientras que, en las

camas irrigadas con efluente del digestor, la máxima acumulación de HA se presentó a los 26 días (EWB y EB). Si estos resultados se comparan con los obtenidos en el primer experimento, se observa que tanto la adición de agua como de efluente del digestor causaron una disminución en HA en el precompostaje y presentaron su máxima acumulación a los 20 días. En la fase de lombricompostaje, el HA mostró una disminución en todos los tratamientos con agua en comparación con el primer experimento. Además, el valor más alto de HA en el segundo experimento se presentó en el tratamiento WWB, sin embargo, es 1.2 veces menor que el más alto del primer experimento (tratamiento WB).

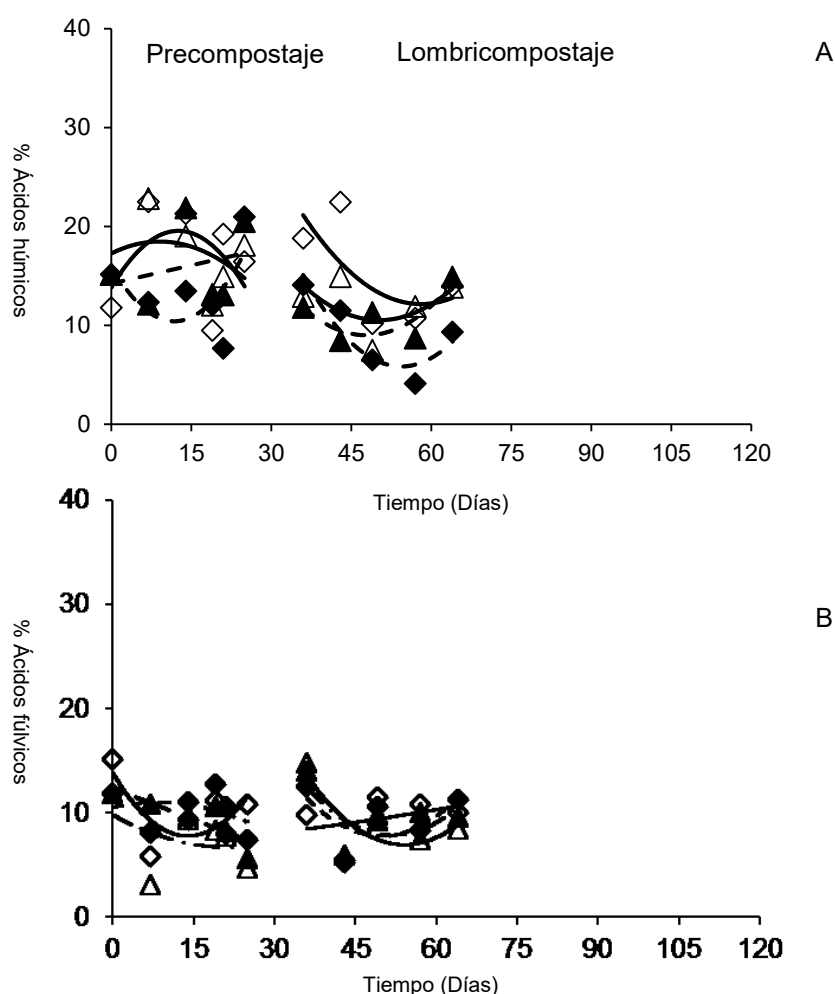


Figura 2. Porcentaje de ácido húmico (A) y ácido fúlvico (B) durante el proceso de compostaje en el segundo experimento donde la bacteria se adicionó al inicio del proceso de precompostaje. $\diamond$ —WWB; $\triangle$ —WB; $\blacklozenge$ —EWB; $\blacktriangle$ —EB

Debido a la falta de parámetros para los ácidos húmicos (HA) en la regulación mexicana, se tomó como referencia la regulación española, que dicta el contenido mínimo de HA en el lombricompostaje, el cual debe ser del 7% (Ministerio de la Presidencia, 2013). Los valores en ambos experimentos estuvieron dentro de este parámetro español, con la excepción del tratamiento EWB en el segundo experimento. El lombricompostaje con niveles más bajos de HA tendrá menos interacción con los componentes del suelo (Sholkovitz y Copland, 1981; Vavouraki y Kornaros, 2023). Asimismo, Arancon et al. (2003) corroboraron que el contenido de sustancias húmicas en la lombricomposta es indicativo de un mejor crecimiento de las plantas. Además, esto sugiere que la interacción de HA con los componentes del suelo podría verse afectada, lo que podría reducir el

crecimiento de las plantas, especialmente para el lombricompostaje del segundo experimento (Arancon et al., 2003; Sholkovitz y Copland, 1981).

Por otro lado, en el primer experimento, los ácidos fúlvicos (FA) mostraron una tendencia a disminuir durante la etapa de lombricompostaje en comparación con la etapa de pre-lombricompostaje, excepto para el tratamiento WB (Figura 1B). Se demostró que después de un proceso de lombricompostaje, el nivel de ácidos húmicos y fúlvicos aumenta, enriqueciendo el material para ser utilizado en el enriquecimiento de suelos (Wani y Mamta, 2013).

En el segundo experimento, la concentración de FA mostró una disminución en ambas fases (Figura 2A y B). Sin embargo, para los tratamientos irrigados con agua (WWA y WA), se observó un aumento en el porcentaje de FA, este comportamiento también se observó en el primer experimento. En la fase de lombricompostaje, la tendencia en ambos experimentos mostró los mismos comportamientos, sin embargo, el porcentaje más bajo fue el tratamiento EB al final del primer experimento, y el tratamiento WB al final del segundo experimento.

Los elementos predominantes en las sustancias húmicas son carbono y oxígeno; el contenido de carbono en HA está en un rango del 50 al 60%, mientras que el contenido de oxígeno es del 30 al 35%, el porcentaje de contenido de hidrógeno y nitrógeno es del 4 al 6% y del 2 al 4% respectivamente. El húmico está en el mismo orden de magnitud que el HA. El carbono en los FA está en un rango del 40 al 50%, el contenido de oxígeno del 44 al 50%, mientras que el nitrógeno es del 1 al 4% (Schintzer y Khan, 1989). Los datos disponibles sugieren que estructuralmente las tres fracciones son similares, pero con diferente peso molecular; análisis adicionales de grupos funcionales muestran que la fracción de FA tiene un peso molecular menor que el HA (Vaca et al., 2006). Los FA tienen un alto contenido de oxígeno en su estructura, pero un bajo contenido de carbono y nitrógeno en comparación con los HA, por lo tanto, los HA son más importantes para fines agrícolas (Landgraf et al., 1998). Los grupos funcionales con oxígeno contenidos en mayor cantidad en las sustancias húmicas son: carboxilos, fenoles, varios grupos de alcoholes, carbonilos y metoxilos. Los FA tienen un efecto más rápido en la planta, pero son menos persistentes que los HA. Por lo tanto, los resultados sugieren que se recomienda utilizar un producto de composta con más HA que FA para la producción de plantas debido a que el contenido de HA proporciona más carbono y nitrógeno que la fracción de FA (Landgraf et al., 1998). En ambos experimentos, los tratamientos WB fueron más eficientes en este sentido.

Análisis estadístico de los parámetros fisicoquímicos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de los resultados obtenidos para los dos experimentos. Las variables utilizadas fueron la presencia o ausencia de efluente y de bacterias. En el primer experimento (inoculación bacteriana durante el lombricompostaje), las variables HA, DA y OM se transformaron utilizando el logaritmo para mejorar su valor de R^2 . El factor efluente mostró tener un efecto significativo sobre las variables HA ($P=0.025$), DA ($P=0.002$), NT ($P=0.004$), OM ($P=0.008$), relación C:N ($P=0.016$), CE ($P=0.0003$) y pH ($P=0.000$), todos con un nivel de significancia $\alpha=0.05$. Mientras que el factor bacteria solo tuvo un efecto significativo sobre las variables HA ($P=0.001$) y DA ($P=0.0169$). La humedad no fue influenciada por ninguna de las variables estudiadas, ni tampoco la interacción efluente-bacteria.

Para el segundo experimento, donde la inoculación se realizó desde el precompostaje, los datos también requirieron una transformación para mejorar el valor de R^2 . Las variables transformadas fueron HA, DA, NT, OM, relación C:N y H. Para las dos primeras se empleó el logaritmo, para NT se elevó al cuadrado, OM se obtuvo la raíz cuadrada, la relación C:N se consideró el recíproco, y H se elevó a una potencia de cinco. En este caso, la variable efluente mostró un efecto significativo en las variables HA ($P=0.007$), DA ($P=0.003$), CE ($P=0.000$) y pH ($P=0.0001$). En el caso de la variable bacteria, fueron significativas para HA ($P=0.003$), DA ($P=0.005$), CE ($P=0.0452$) y relación C:N ($P=0.027$). La interacción efluente-bacteria fue solo significativa para la variable de respuesta CE con un valor de $P=0.0007$. Si consideramos la variable de respuesta HA, para ambos experimentos,

encontramos que ni las bacterias y ni el empleo del efluente afectan la calidad de la lombricomposta final, lo que indica que la integración de estos elementos es factible para el desarrollo de bioabonos.

Si consideramos la variable de respuesta HA para ambos experimentos, encontramos que ni las bacterias ni el uso del efluente afectan significativamente la calidad de la lombricomposta final, lo que indica que la integración de estos elementos es viable para el desarrollo de bioabonos. Este hallazgo es relevante ya que sugiere que la combinación del efluente de digestión anaeróbica con bacterias lignocelulósicas puede ser una buena opción para producir composta, manteniendo la calidad de la lombricomposta y reduciendo el tiempo de lombricomposta en casi un 30% en comparación con el tiempo reportado por estudios anteriores como los de Romero y Ferrara-Cerrato (2002) y Contreras-Ramos et al. (2005).

Determinación de la actividad de manganeso peroxidasa durante el proceso de compostaje

Considerando que el consorcio microbiano empleado tiene propiedades ligninolíticas, la actividad de la peroxidasa dependiente de manganeso (MnP) se cuantificó a lo largo de las dos etapas de los experimentos (Figura 3). Para los puntos donde no se detectó actividad enzimática, se consideró un valor de cero al momento de graficar. En el primer experimento, la mayor absorbancia se alcanzó en el 20 día (Figura 3A), mostrando claras diferencias entre los tipos de compostas irrigadas con agua o con efluente. Para el segundo experimento, los puntos máximos fueron a los 20 y 65 días (Figura 3B). Ésta última fecha mostró el valor más elevado de ambos experimentos con una actividad de 0.0136 UA/mL para el tratamiento EB. Sin embargo, la actividad de MnP puede atribuirse a la presencia de microorganismos propios del sistema pues en aquellas camas que no fueron suplementadas con bacterias se detectó actividad de esta enzima. Por lo que el efecto de la actividad de MnP no puede atribuirse del todo al consorcio incorporado a las camas. A pesar de ello, la calidad de las compostas fue diferente considerando la incorporación o no de las bacterias al ser afectados principalmente los contenidos de HA y de la DA.

Determinación de lacasa durante el proceso de compostaje

Debido a la composición de materia lignocelulósica en las lombricompostas, la actividad enzimática de lacasa fue determinada para las muestras del material de ambos experimentos. En el primer experimento (inoculación en lombricompostaje) la actividad de lacasa fue nula (datos no mostrados); mientras que, en el segundo experimento, se encontró que los tratamientos irrigados con efluente del biodigestor presentaron una mayor actividad de lacasa (EWB y EB) entre 1.2 y 4 veces más. Se demostró que al final del proceso, el tratamiento con mayor actividad fue el que se inoculó con el consorcio y se irrigó con efluente (tratamiento EB, Figura 4). Según Cohen y Gabriele (1982) las lacasas están involucradas en la despolimerización del carbón, humus, y ácidos húmicos de soluciones colorantes. Asimismo, Burke y Cairney (2002) describen que las lacasas participan en la despolimerización de las células vegetales en la simbiosis micorrícica. Por lo anterior, se entiende que la actividad de lacasa puede estar relacionada con la cantidad de HA, lo que explica que en el primer experimento no se detecte actividad y la cantidad de HA sea mayor que en el segundo experimento, en el que sí se demostró la actividad de lacasa.

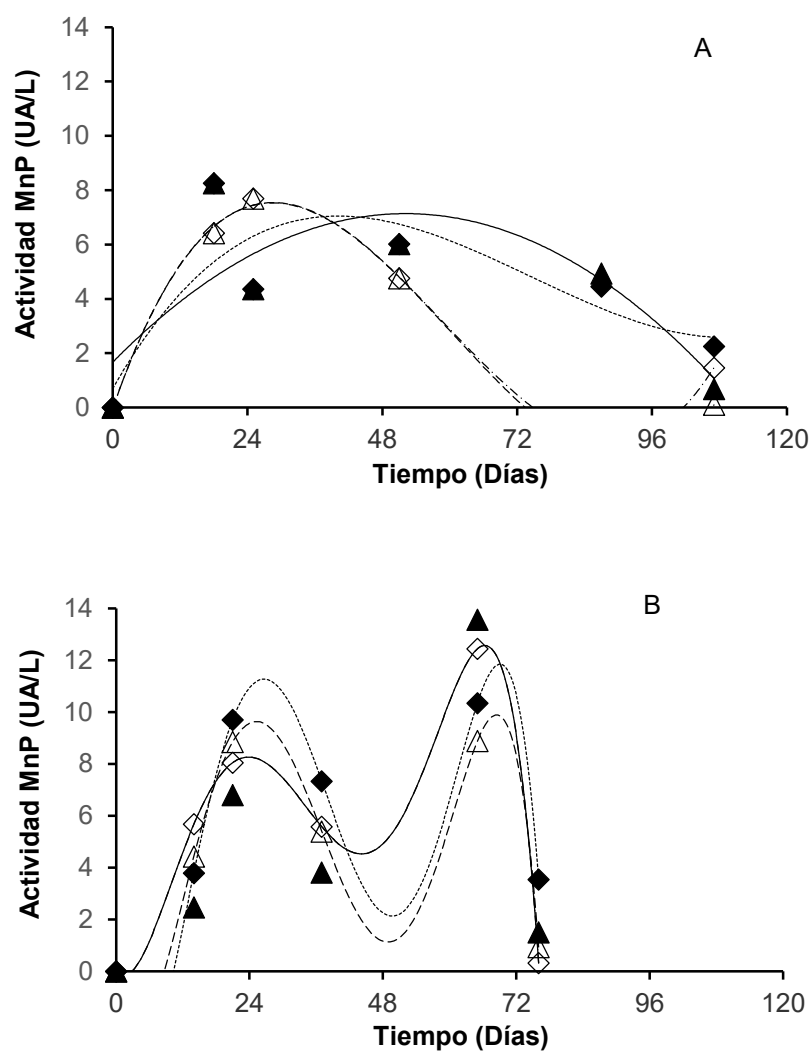


Figura 3. Detección de la actividad de manganeso peroxidasa durante la combinación de un efluente anaerobio y un consorcio lignocelulósico para la etapa de lombricompostaje (A) y la etapa de precompostaje (B). ◇—WWB; Δ—WB; ◆—EWB; ▲—EB

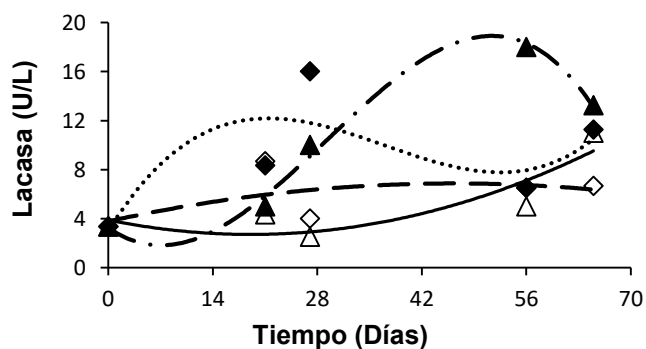


Figura 4. Detección de la actividad de lacasa durante la combinación de un efluente anaerobio y un consorcio bacteriano lignocelulósico en la etapa de precompostaje. ◇—WWB; Δ—WB; ♦ EWB; ▲ · —EB

CONCLUSIONES

Este estudio demostró que la utilización de un efluente anaeróbico junto con un consorcio bacteriano lignocelulósico podría ayudar potencialmente a reducir el tiempo del proceso de lombricompostaje y generar un biofertilizante de buena calidad comparable con aquellos irrigados con agua potable. Los mejores resultados se lograron con una mezcla de efluente y bacterias (tratamiento EB). El producto de lombricomposta resultante alcanzó relaciones de HA, FA y C:N similares a las reportadas para este tipo de proceso. Adicionalmente, el tiempo de precompostaje se puede disminuir hasta en un 30% al inocular con un consorcio bacteriano hidrolítico en la fase de precompostaje previo a la lombricomposta, lo cual deriva en un ahorro de agua de hasta 8 litros de líquido por tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. Albanell, E., Plaixats, J., Cabrero, T. (1988). "Chemical changes during vermicomposting (*Eisenia fetida*) of sheep manure mixed with cotton industrial wastes". *Biol. Fertil. Soils*, 6:266–269.
2. Arancon, N. Q., Lee, S., Edwards, C. A., Atiyeh, R. (2003). "Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants". *Pedobiologia*, 47(5):741-744.
3. Atiyeh, R. M., Edwards, C. A., Subler, S., & Metzger, J. D. (2001). "Pig manure vermicompost as a component of a horticultural bedding plant medium: effects on physicochemical properties and plant growth". *Bioresource Technology*, 78(1):11-20.
4. Barbado, J. L. (2003). "Cría de lombrices". Editorial Albatros. México. Pp 56-58.
5. Burke, R. M., y Cairney, J. W. G. (2002). "Laccases and other polyphenol oxidases in ecto- and ericoid mycorrhizal fungi". *Mycorrhiza*, (12):105–116.
6. Cohen, M. S., y Gabriele, P. D. (1982). "Degradation of coal by the fungi *Polyporus versicolor* and *Poria monticola*". *Appl. Environ. Microbiol.*, (44):23–27.
7. Contreras-Ramos, S. M., Escamilla-Silva, E. M., & Dendooven, L. (2005). "Vermicomposting of biosolids with cow manure and oat straw". *Biology and Fertility of Soils*, 41(3):190-198.
8. Da Luz, J. M. R., Paes, S. A., Nunes, M. D., da Silva, M. D. C. S., & Kasuya, M. C. M. (2013). "Degradation of Oxo-Biodegradable Plastic by *Pleurotus ostreatus*". *Plos one*, 8(8):69386.
9. Domínguez, J., Edwards, C. A. (2011) "Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting". *Vermiculture Technology*. CRC Press. Chapter. 3, pp. 27-40.
10. Edwards, C. A., Fletcher, K. E. (1988). "Interaction between earthworms and microorganisms in organic matter breakdown". *Agric. Ecosyst. Environ.*, 20:235–249.
11. Fracchia, L., Dohrmann, A. B., Martinotti, M. G., Tebbe, C. C. (2006). "Bacterial diversity in a finished compost and vermicompost: differences revealed by cultivation independent analyses of PCR-amplified 16S rRNA genes". *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 71:942–952.
12. Hoitink, H. A. J., & Boehm, M. J. (1999). "Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon". *Annual review of phytopathology*, 37(1):427-446.
13. Kuwahara, M., Glenn, J. K., Morgan, M. A., & Gold, M. H. (1984). "Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*". *FEBS letters*, 169(2):247-250.
14. Landgraf, M. D., da Silva, S. C., & Rezende, M. O. D. O. (1998). "Mechanism of metribuzin herbicide sorption by humic acid samples from peat and vermicompost". *Analytica Chimica Acta*, 368(1):155-164.
15. Lazcano, C., Gomez, B. M., Dominguez, J. (2008). "Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure". *Chemosphere*, 72:1013–1019.

16. Liu, L., Lin, Z., Zheng, T., Lin, L., Zheng, C., Lin, Z. & Wang, Z. (2009). "Fermentation optimization and characterization of the laccase from *Pleurotus ostreatus* strain 10969". *Enzyme and Microbial Technology*, 44(6):426-433.
17. Meli, S., Maurizio, M., Belligno, A., Bufo, S. A., Mazzatura, A., Scopa, A. (2002). "Influence of irrigation with lagooned urban wastewater on chemical and microbial soil parameters in a citrus orchard under Mediterranean condition". *Sci. Total Environ.*, 285, 69–77.
18. Ministerio de la Presidencia. (2013). "Real Decreto 506/2013 sobre productos fertilizantes". Boletín Oficial del Estado Español.
19. Mook, D. H., Hoskin, C. M. (1982). "Organic determinations by ignition: caution advised". *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 15(6):697-699.
20. Nengwu, Z. 2007. "Effect of low initial C/N ratio on aerobic composting of swine manure with rice straw". *Bioresource Technology*, 98:9-13.
21. Olivares-Campos, M. A., Hernández-Rodríguez, A., Vences-Contreras, C., Jáquez-Balderrama, J. L., & Ojeda-Barrios, D. (2012). "Lombricomposta y composta de estiércol de ganado vacuno lechero como fertilizantes y mejoradores de suelo". *Universidad y Ciencia*, 28(1):27-37.
22. Potala H. M., Chandrashekhar, S. (2020). Influence of Application of Seri-Waste Bio-Digester Liquid to Mulberry on Cocoon Parameters of Silkworm, *Bombyx mori* L. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 9(04): 116-120. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.904.015>
23. Ramirez-Fuentes, E., Lucho-Constantino, C., Escamilla-Silva, E., Dendooven, L. (2002). "Characteristics, and carbon and nitrogen dynamics in soil irrigated with wastewater for different lengths of time". *Bioresour. Technol.* 85:179–187.
24. Romero, S. S., & Ferrera-Cerrato, R. (2002). "Dinámica poblacional de *Eisenia andrei* (Bouché 1972) en diferentes residuos orgánicos". *Terra*, 20:303-310.
25. Sánchez-Monedero, M. A., Roig, A., Martínez-Pardo, C., Cegarra, J., Paredes, C. (1996). "A microanalysis method for determining total organic carbon in extracts of humic substances. Relationships between total organic carbon and oxidable carbon". *Bioresource Technology*, 57:291-295.
26. Schnitzer, M., Khan, S. U. (1972). "Humic substances in the environment". Marcel Dekker, INC., New York. Pp. 10-55.
27. Schnitzer, M., Khan, S.U. (1989). "Humic substances: chemistry and reactions". In *Soil Organic Matter*, 4th. Impression, Elsevier Science Publishers Company New York, NY, USA. Pp. 8-10.
28. SEMARNAT (2012). "Informe de la Situación del Medio Ambiente en México". Compendio de Estadísticas Ambientales Indicadores clave y de desempeño ambiental, Edición 2012. Capítulo 3 Suelos.
29. Sharma, S. (2003). "Municipal solid waste management through vermicomposting employing exotic and local species of earthworms". *Bioresource Technol.*, 90(2):169-173.
30. Sholkovitz, E. R., Copland, D. (1981). "The coagulation, solubility and adsorption properties of Fe, Mn, Cu, Ni, Cd, Co and humic acids in a river water". *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45(2):181-189.
31. Toze, S. (2005). "Reuse of effluent water- benefits and risks". *Agricultural Water Management*, 147-159.
32. Vaca P., Lugo de la Fuente, J., Esteller, E., (2006). "Caracterización de la materia orgánica soluble y de los ácidos húmicos en suelo acondicionado con lodo residual fresco o compostado". *Rev. Int. Contam. Ambient.* 22(1):27-37.
33. Vavouraki, A. I., Kornaros, M. (2023). "Vermi-Conversion of Anaerobic Sludges by *Eisenia fetida* Earthworms" *Fermentation* 9(6):512. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060512>
34. Wani, K. A., Mamta, Rao, R. J. (2013). "Bioconversion of garden waste, kitchen waste and cow dung into value-added products using earthworm *Eisenia fetida*". *Saudi J. Biol. Sci.*, 20:149-154.
35. Wong, J.W.C., Fang, M., Li, G.X., Wong, M.H. (1997). "Feasibility of using coal ash residues as co-composting materials for sewage sludge". *Environmental Technology* 18(5):563-568.
36. Yuvaraj, A.; Thangaraj, R.; Ravindran, B.; Chang, S.W.; Karmegam, N. (2021). "Centrality of cattle solid wastes in vermicomposting technology—A cleaner resource recovery and biowaste recycling option for agricultural and environmental sustainability". *Environ. Pollut.* 268.

EVALUACIÓN ANTIFÚNGICA Y ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS FENÓLICOS DE TALLO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) CONTRA *COLLETOTRICHUM GLOESPORIODES*

Patsy Suleyma Hernández Olivares¹, Karla Nallely Rivera Hernández¹, Pedro Sebastian Vargas Cardoso¹ y María del Sugeyrol Villa Ramírez¹

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
phernandezo2200@alumno.ipn.mx

RESUMEN

Tanto el aumento de la población como en el consumo de productos agrícolas ha provocado una gran cantidad de residuos agroindustriales entre los que destacan el tallo seco del ajo (*Allium sativum*). Estos residuos tal es el caso del tallo de ajo al no ser aprovechados provocan problemas como contaminación. En esta investigación se busca el aprovechamiento de esta merma mediante la optimización de la extracción de compuestos fenólicos para combatir a *C. gloeosporioides* hongo que afecta diversos frutos tropicales. Para ello se utilizó el diseño experimental Box-Behnken y se evaluó el efecto de tres factores influyentes en la extracción de compuestos fenólicos, cada uno en tres niveles (concentración de EtOH 40% 60% y 80%), (temperatura de maceración 25°C, 47.5°C 70°C) y (tiempo de maceración 1h, 12.5h y 24h). Como variables respuesta se empleó el contenido de fenoles totales determinado por el método de Folin-Ciocalteu, determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH y % de actividad antifúngica realizando ensayos *in vitro* con base en el porcentaje de inhibición del crecimiento radial micelial determinado a partir de la comparación del crecimiento en placas de medio PDA envenenado respecto al control. El análisis de datos se procesó en el software Statgraphics X64. Los resultados del diseño proporcionaron como condiciones óptimas de extracción en las variables estudiadas las siguientes: EtOH al 60%, 47. 5°C y 12.5 h de maceración, los valores del extracto óptimo con respecto a las variables de respuesta mostraron los siguientes valores; en cuanto al contenido de fenoles totales 12.45 ± 0.73 (mgGAE/ g de extracto), capacidad antioxidante 334.81 ± 11.48 ($\mu\text{molTrolox/ g}$ de extracto) y % Inhibición 48.24 ± 0.02 es superior a las restantes condiciones de extracción para un extracto bioactivo con potencial uso antifúngico.

INTRODUCCIÓN

En la última década el ajo (*Allium sativum*) se ha tornado como uno de los vegetales con mayor importancia a nivel mundial, se pretende que los subproductos que surgen a partir del procesamiento del bulbo que son considerados como desecho puedan explotarse con otros fines industriales, como la extracción de compuestos bioactivos, extracción de ingredientes funcionales y la producción de compuestos fenólicos. La empresa Alimentos Nutritivos del Altiplano pretende revalorizar la merma de tallo de ajo que se produce a partir del procesamiento de ajo ya que está merma es desechada y/o quemada lo que produce contaminación, afecta al medioambiente e incluso a flora y fauna.

La producción de ajo en México creció un 4.3% al 2020, esto quiere decir que nuestro país se convirtió en el 9no exportador mundial dejando una gran cantidad de residuos disponibles para su aprovechamiento como materia prima mediante la extracción de compuestos bioactivos, esta investigación se enfoca totalmente en la extracción de compuestos fenólicos, dentro de los que se consideraran con mayor nivel de importancia para este trabajo serán los compuestos antioxidantes y los de alto potencial antifúngico contra hongos fitopatógenos.

El uso de extractos vegetales con propiedades antifúngicas ha sido una práctica común durante miles de años, por ejemplo, los polvos o extractos de acacia, ajo, eucalipto y menta funcionan como fungicidas capaces de controlar diferentes enfermedades. La actividad biológica de un extracto con respecto a un hongo varía en función de la metodología de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, etc.), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, semillas, etc.), fecha de cosecha, entre otras. Singh (2014) y De Alameida et al. (2016) reportaron que hasta la fecha se habían explorado más de 6.000 especies de plantas y más de 2.500 especies de estas (pertenecientes a 235 familias) poseían actividad biológica contra algún tipo de plaga y enfermedad; así mismo, este número es bajo conforme se analiza la diversidad total de plantas en el planeta, por

lo que algunos autores sugieren que entre el 1 y 10% de las plantas descubiertas y evaluadas tienen un potencial de producir metabolitos secundarios biológicamente activos contra plagas y enfermedades (Singh, 2000; Koul y Walia, 2009; Bettiol et al., 2014; Jeyalakshmi et al., 2015). El hongo fitopatógeno al que se pretende controlar es *Colletotrichum gloeosporioides* que es el causante de la enfermedad llamada antracnosis, esta enfermedad afecta a frutos tropicales causando lesiones como tejido necrosado.

En el presente trabajo se evaluarán las propiedades bioactivas de los extractos de tallo de ajo a través de la actividad antifúngica, calculando la inhibición inducida del hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*, los extractos viables se seleccionarán después de un proceso con diferentes variables que servirá para establecer las condiciones de extracción y posteriormente pruebas *in vitro* con el objetivo de disminuir las variables.

PARTE EXPERIMENTAL

Recepción y preparación de la muestra

Se obtuvo un lote de tallo de ajo cosechado por pequeños productores de la comunidad Tepetitla de Lardizábal Tlaxcala ubicado en las coordenadas 19° 15' y 19° 19' de latitud norte; los meridianos 98° 20' y 98°25' de longitud oeste; altitud de 2 300 m.

El tratamiento aplicado al lote de tallo de ajo previo a su procesamiento consistió en seleccionar las muestras libres de impurezas para posteriormente enjuagar los tallos con agua destilada estéril. Se eliminó la humedad colocando los tallos en charolas de aluminio por 48 horas a 40°C con ayuda de un horno secador marca ECOSHEL modelo 9025H. Posteriormente, los tallos secos fueron pulverizadas en una licuadora Ninja Profesional Plus DUO 1400 vatios usada en nivel 10 y cribados con un tamiz de 2 mm de poro para reducir y homogeneizar el tamaño de partícula. Las muestras de tallo de ajo se almacenaron en bolsas de polipapel a temperatura ambiente para su posterior utilización.

Cepas utilizadas y mantenimiento

La cepa del hongo *C. gloeosporioides* fue reactivada y cultivada a partir de viales mediante punción en placas de agar PDA a temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Los hongos fueron mantenidos en placas PDA y fueron resembrados periódicamente. Los subcultivos se realizaron inoculando el centro de placas de agar PDA con una porción de agar con micelio de 5 mm de diámetro cortada de un cultivo de 14 días e incubando a temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

Optimización de la extracción de compuestos bioactivos

La extracción se realizó por maceración con agitación mecánica usando etanol como disolvente. Para ello se utilizó el diseño experimental Box-Behnken y se evaluó el efecto de tres factores influyentes en la extracción de compuestos fenólicos, cada uno en tres niveles (concentración de EtOH 40% 60% y 80%), (temperatura de maceración 25°C, 47.5°C 70°C) y (tiempo de maceración 1h, 12.5h y 24h) así como lo muestra la tabla 1.

Tabla 1 Análisis de optimización por el método de Box-Behnken diseñado en el software Statgraphics 19

Tratamientos	Tiempo (h)	Concentración % v/v	Temperatura °C
1	24	40	47.5
2	1	60	25
3	12.5	60	47.5
4	1	60	70
5	1	40	47.5

6	12.5	60	47.5
7	12.5	80	70
8	24	60	70
9	12.5	40	70
10	24	80	47.5
11	12.5	80	25
12	12.5	60	47.5
13	24	60	25
14	1	80	47.5
15	12.5	40	25

La relación muestra: solvente usada fue de 10:100 muestra base seca/mL solvente. Una vez transcurrido el tiempo de extracción, los extractos se filtraron con papel de celulosa Whatman n.º4 y se evaporaron a sequedad en un evaporador rotatorio, Finalmente se resuspendieron en una solución acuosa de Tween 80 al 1% v/v para mejorar la solubilidad de los extractos a concentraciones de 10 mg/mL en refrigeración a 4°C para los análisis posteriores.

Método espectrofotométrico para la cuantificación de compuestos fenólicos totales en extractos

La determinación del contenido total de fenoles se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu propuesto por Hussain et al. (2012); el cual, es un ensayo basado en transferencia de electrones y proporciona una capacidad reductora que se expresa como contenido fenólico equivalente a un ácido fenólico estándar. En resumen, se añadió 0.1 mL de solución de extracto a una concentración de 2 mg/mL a 0.1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu HYCEL México y 1.5 mL de agua destilada. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añadieron 0.3 mL de (NaCO₃) J.T. Baker® USA al 20% p/v). Finalmente, la mezcla se dejó reposar en oscuridad a temperatura ambiente durante 1 h y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro.

El contenido total de fenoles se estimó a partir de una curva estándar de ácido gálico y se expresó como:

Ecuación 1 Determinación del contenido de fenoles

$$\text{Fenoles totales (FT)} = \frac{\text{mg equivalentes de ácido gálico (GAE)}}{\text{g de extracto}}$$

Determinación de la capacidad de captación de radicales DPPH en extractos

El ensayo de captación radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) Sigma-Aldrich Indonesia se realizó para medir la actividad de eliminación/captación de radicales libres siguiendo el método modificado descrito por Hussain et al. (2012). Brevemente, se mezclaron 50 µL de la solución de extracto a diferentes concentraciones (0.1-1.2 mg/mL) con 150 µL de solución de DPPH (90 µM) disuelto en etanol al 96% y se incubaron con agitación por 30 min a 37°C. Finalmente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro de microplacas MULTISKAN FC y el porcentaje de inhibición de radicales libres de cada concentración de extracto se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

Ecuación 2 Determinación de la capacidad antioxidante

$$\% \text{ Inhibición (DPPH)} = \frac{A0 - A1}{A0} * 100$$

Donde:

A0 = absorbancia de la solución de DPPH

A1 = absorbancia de la solución de extracto con DPPH a las diferentes concentraciones.

Como control positivo se realizó el mismo procedimiento sustituyendo el extracto por un análogo de vitamina E Sigma-Aldrich USA (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2- carboxílico o Trolox) en un rango de concentraciones de 16.87 a 224.94 µM.

Finalmente, la actividad antioxidante de los extractos y del control se determinó mediante el cálculo del IC50(DPPH), que corresponde a la concentración de extracto o control que proporciona un 50% de eliminación de radicales DPPH y se calculó a partir de un modelo de regresión no lineal (inhibición vs. Respuesta pendiente variable) de las curvas de porcentaje de actividad de eliminación de DPPH trazado gráficamente frente a la concentración. La actividad antioxidante se expresó como %Inhibición o IC50 (DPPH) como actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC).

Ecuación 3 %Inhibición o IC50 (DPPH)

$$TEAC (DPPH) = \frac{\mu\text{mol (Tx)}}{\text{g extracto}}$$

Ensayos in vitro aplicados a los extractos de tallo de ajo

Los ensayos antifúngicos *in vitro* se realizaron con base en el porcentaje de inhibición del crecimiento radial micelial de *C. gloeosporioides* y determinado a partir de la comparación del crecimiento en placas de medio PDA envenenado respecto al control. Las placas de medio envenenado se prepararon diluyendo en un matraz con agar PDA estéril, el volumen necesario que contenía 1 mg/ml de extracto. El medio se agitó para conseguir una mezcla homogénea y finalmente fue vertido en placas petri de 60 × 15 mm, el cual se dejó enfriar y solidificar. Las placas control consistieron únicamente en agar PDA sin extracto.

Todas las placas fueron inoculadas en el centro con una pieza de agar circular de 5 mm cortada de un cultivo puro del hongo evaluado en cada caso. Las placas se incubaron a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) y se evaluó el crecimiento micelial radial después de 11 días. Los diámetros se midieron utilizando un vernier digital.

Todos los ensayos se realizaron por duplicado. El porcentaje de inhibición del crecimiento se determinó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 4 Determinación del % de inhibición

$$\% \text{ de inhibición} = 1 - \frac{x}{y} * 100$$

Análisis estadístico

Para todos los análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones de media se utilizó el software Minitab 19, para el análisis estadístico del método Box-Behnken se utilizó el software Statgraphics X64

RESULTADOS

Evaluación de la optimización del proceso de extracción de compuestos bioactivos de tallo de ajo

La literatura reporta que los parámetros de extracción aplicados a un determinado material vegetal ocupan un papel fundamental en la determinación del tipo y la cantidad de compuestos activos obtenidos, por ende, en la determinación de la actividad antifúngica de los extractos (Duraisamy Saravanakumar et al., 2015). A través de un gran número de investigaciones desarrolladas a lo largo de los años se han desarrollado avances en los métodos de obtención de extractos. La extracción con solventes es la técnica más utilizada para el aislamiento de compuestos antioxidantes vegetales (Moure et al., 2001). Sin embargo, como señalan Ncama et al. (2019), en las primeras investigaciones que se tienen documentadas, las extracciones se realizaban únicamente con agua fría o caliente como disolvente. Eventualmente, los alcoholes y ácidos orgánicos se introdujeron

como solventes por su capacidad para extraer compuestos en concentraciones mayores. La optimización de los procedimientos de extracción de compuestos bioactivos es de gran importancia debido al efecto que generan los cambios en condiciones tales como el método de extracción, el solvente a utilizar, la relación muestra-solvente, la temperatura, el tiempo de extracción, entre otros sobre el rendimiento de extracción individual de cada uno de los compuestos bioquímicos extraíbles (Fortunata et al., 2019).

Para la optimización de la extracción de compuestos bioactivos se propuso el análisis estadístico del método Box-Behnken que propone 15 tratamientos con sus repeticiones incluidas y considera 3 variables, la concentración del solvente, la temperatura y el tiempo de extracción en 3 niveles cada una (tabla 2). Lo anterior orientado a la obtención de un extracto de tallo de ajo con actividad antifúngica, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante viable para ser aplicado a pruebas *in vitro*.

Tabla 2 Valores obtenidos para cada tratamiento aplicando las variables de respuesta propuestas para la optimización de la extracción de metabolitos secundarios de tallo de ajo con acción antifúngica contra Colletotichum gloeosporioides

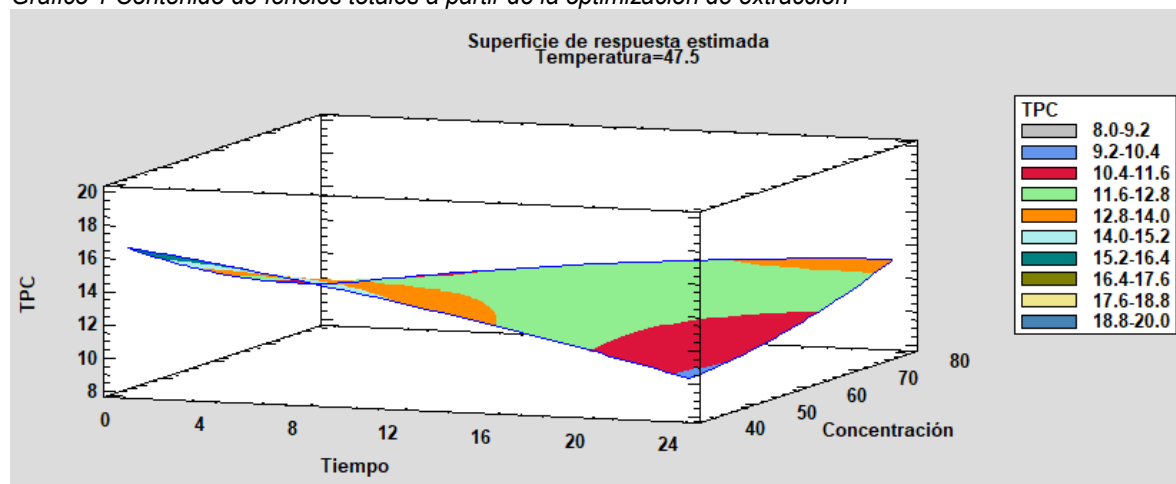
Tratamientos	Tiempo (h)	Concentración %v/v	Temperatura °C	% de inhibición	TPC (mgGAE/ g de extracto)	TEAC DPPH (μmolTrolox / g de extracto)
1	24	40	47.5	9.84	8.59	268.52
2	1	60	25	-4.15	11.12	294.44
3	12.5	60	47.5	50.20	11.55	402.22
4	1	60	70	-5.85	11.65	337.04
5	1	40	47.5	-4.34	18.69	518.52
6	12.5	60	47.5	50.14	13.35	322.22
7	12.5	80	70	39.76	14.38	275.93
8	24	60	70	11.13	15.66	350.93
9	12.5	40	70	19.13	13.43	351.85
10	24	80	47.5	7.64	10.98	360.19
11	12.5	80	25	4.68	11.95	357.41
12	12.5	60	47.5	44.37	12.45	350.00
13	24	60	25	4.60	11.49	310.19
14	1	80	47.5	-9.75	12.08	272.22
15	12.5	40	25	-13.43	14.26	393.52

Dado que la principal causa de pérdidas económicas y principal complicación en el manejo de frutos en postcosecha es la infección por hongos fitopatógenos (Gupta & Jain, 2014), el poder antifúngico de los extractos resultantes fue el criterio más importante para seleccionar las condiciones óptimas de extracción. Por lo tanto, el porcentaje de inhibición del crecimiento de los hongos evaluados fue la única variable de respuesta a considerar para realizar la selección de los parámetros de extracción. Sin embargo, es necesario señalar que con cada uno de los extractos preparados se realizaron ensayos de determinación de actividad antioxidante TAC DPPH, así como de contenido de compuestos fenólicos TPC, para tener estimados los parámetros de la composición de los extractos y probables aplicaciones futuras.

Evaluación del contenido de fenoles totales de extractos de tallo de ajo obtenido a partir de la optimización de la extracción

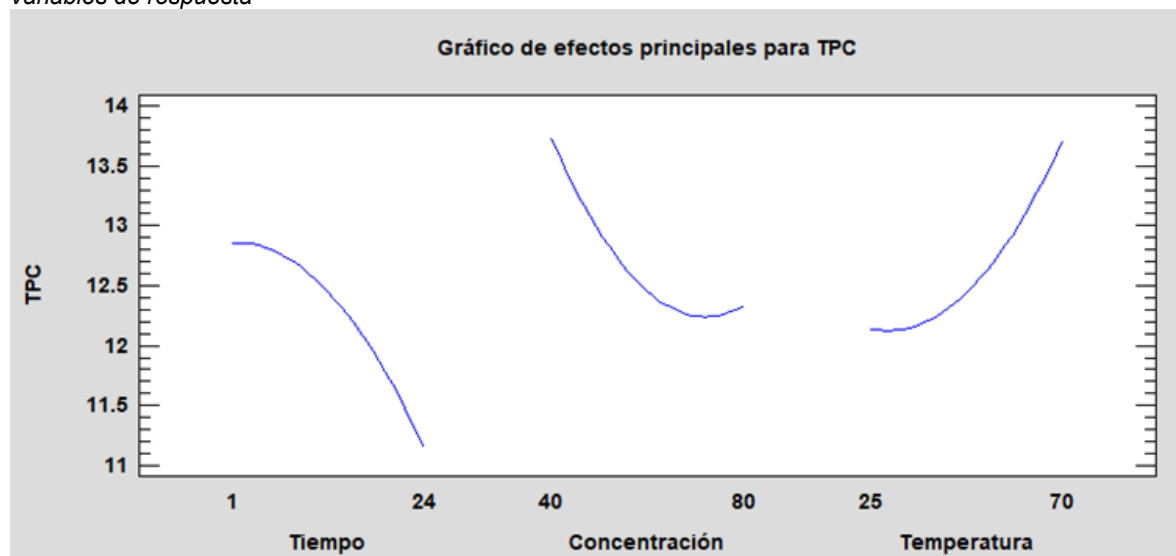
Los gráficos de superficie de respuesta 1 y 2 de efectos principales, presentan los resultados del contenido de fenoles de cada uno de los extractos de tallo de ajo obtenidos a partir de la optimización del proceso. En el gráfico 1 de superficie de respuesta se presenta que a partir de una temperatura constante de extracción de 47.5°C las variables de respuesta tiempo y concentración fueron probadas a diferentes niveles y se pudo comprobar que no hay diferencia significativa entre cada una de las combinaciones de valores, los resultados oscilan entre 8 y 20 mgGAE, así como lo reporta Chessa et al. (2022) ensayo de contenido fenólico total no mostró diferencias significativas en el contenido fenólico total entre las tres variedades de paja de arroz.

Gráfico 1 Contenido de fenoles totales a partir de la optimización de extracción



Dentro de los efectos principales de las variables de respuesta (gráfico 2) se muestra que los valores en un tiempo corto de maceración, concentración etanólica al 40 % y temperatura de maceración de 50°C hay mayor cantidad de TPC. La cantidad de compuestos fenólicos se presenta en función de la concentración del extracto.

Gráfico 2 Contenido de fenoles totales a partir de la optimización de extracción por efectos principales de las variables de respuesta



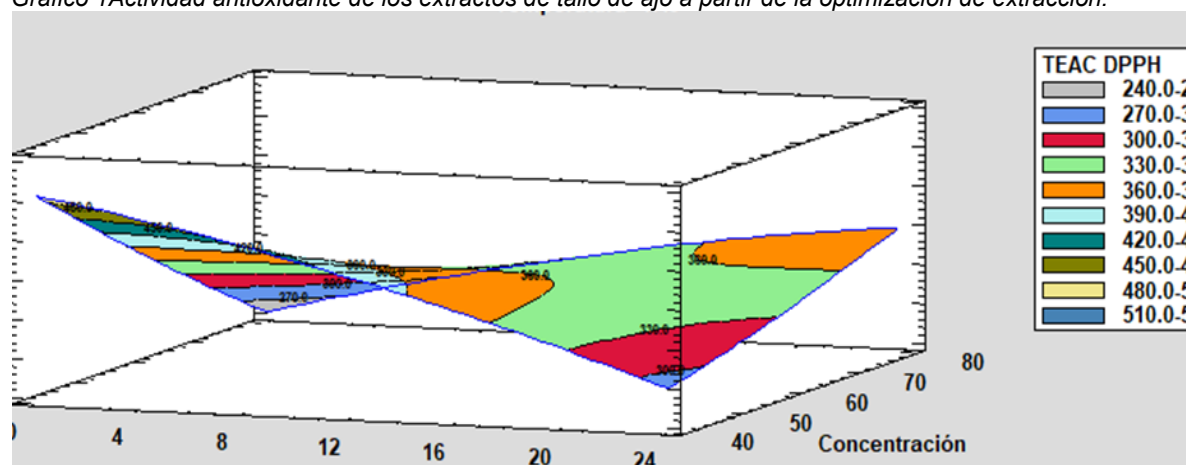
Evaluación de actividad antioxidante de extractos de tallo de ajo obtenido a partir de la optimización de la extracción

La evaluación de la capacidad antioxidante de extractos de tallo de ajo se realizó mediante el método de inhibición de DPPH, por lo que los resultados hacen referencia a la capacidad de los extractos de reaccionar e inhibir el DPPH. El DPPH existe como un radical libre en solución y tiene una absorbancia máxima a 517 nm. La disminución en el valor de absorbancia a través del complejo de radicales antioxidantes indica la capacidad de eliminación de los extractos de muestra (Naqvi et al., 2020).

De acuerdo con Sindhi et al. (2013), un antioxidante es cualquier sustancia que a baja concentración es capaz de retardar la oxidación de proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN. La actividad antioxidante de una gran variedad compuestos fenólicos ha sido estudiada. Como ejemplo, Sudheeran et al. (2020) reportaron la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos y flavonoides encontrados en extractos de mango. Los antioxidantes clasificados como rompe cadenas, de los cuales la familia de compuestos más importante es la de los fenólicos (Viglianisi & Menichetti, 2019).

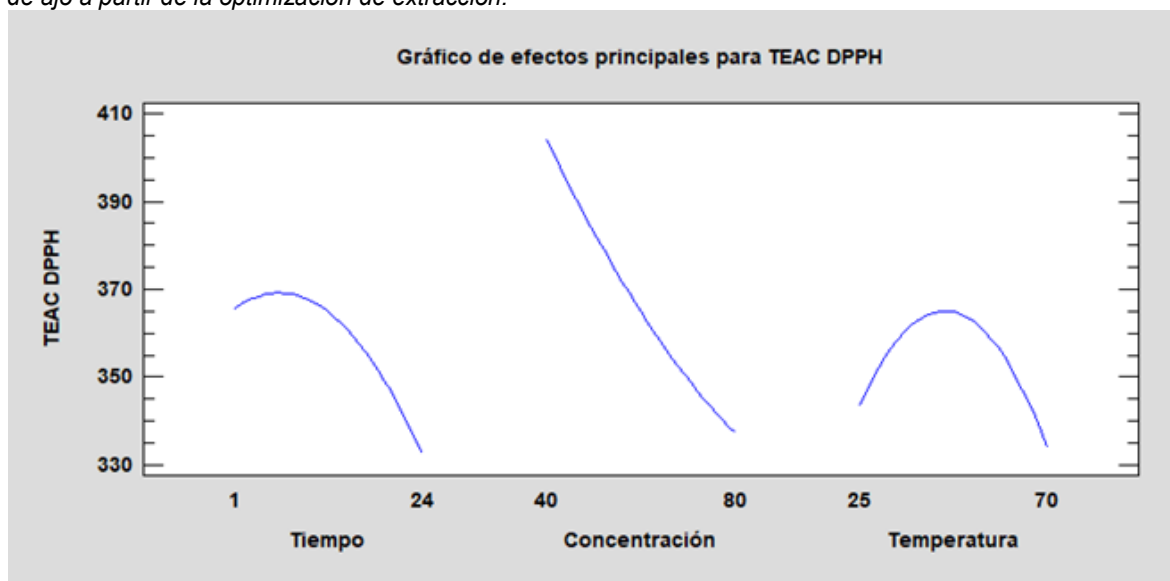
Los graficos de superficie de respuesta 3 y 4 de efectos principales, presentan los resultados de la cantidad de actividad antioxidante de cada uno de los extractos de tallo de ajo obtenidos a partir de la optimización del proceso. En el grafico 3 de puperficie de respuesta se presenta que a patir de una temperatura constante de extracción de 47.5°C las variables de respuesta tiempo y concentracion fueron probadas a diferentes niveles y se pudo comprobar que no hay diferencia significativa entre cada una de las combinaciones de valores, la cantidad de actividad antioxidante oscila entre 240 y 540 µmol de Trolox.

Gráfico 1 Actividad antioxidante de los extractos de tallo de ajo a partir de la optimización de extracción.



Dentro de los efectos principales de las variables de respuesta (grafico 4) se muestra que los valores en un tiempo corto de maceración, concentración etanólica al 40 % y temperatura de maceración de 50°C hay mayor cantidad de TEAC DPPH. La actividad antioxidante se presenta en función de la concentración del extracto. De manera general, como mencionan Moure et al. (2001), la actividad antioxidante aumenta conforme aumenta la concentración del extracto, pero la actividad máxima posible dependerá de los extractos, es decir, de la naturaleza de los compuestos bioactivos presentes en estos.

Gráfico 2 Efectos principales de las variables de respuesta sobre actividad antioxidante de los extractos de tallo de ajo a partir de la optimización de extracción.

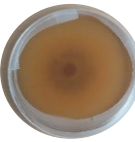
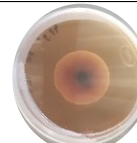
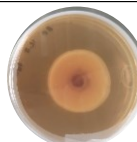
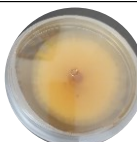
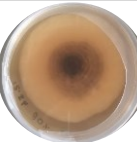
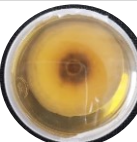
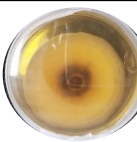


Tanto los rendimientos de extracción como las actividades antioxidantes de los extractos dependen en gran medida de la naturaleza del disolvente de extracción, debido a las diferentes polaridades de los compuestos vegetales (Moure et al., 2001).

Evaluación de la actividad antifúngica de extractos de tallo de ajo obtenidos a partir de la optimización

Una vez realizadas todas las extracciones indicadas por el método Box-Behnken se obtuvieron 15 extractos y con cada uno de ellos se realizaron pruebas *in vivo* contra *C. gloeosporioides*, no todos los extractos presentaron actividad antifúngica, la tabla 3 muestra los porcentajes de inhibición de cada uno de los extractos, se obtuvieron 5 valores negativos lo que significa que esos extractos potencian el crecimiento del hongo ya que en la prueba estos crecen aún más rápido que en la placa control, otros 6 extractos obtenidos tienen características fungistáticas con porcentajes de inhibición que van desde 4.6% hasta el 19.1% de inhibición y 4 de ellos con capacidad fungicida, el extracto que se maceró 12.5 h a 47.5°C con una concentración etanólica del 60% y sus dos réplicas 44.2% 50.1% y 50.2% el otro extracto que presentó característica fungicida fue el macerado 12.5 h a 70°C con una concentración etanólica del 80% pero con un porcentaje menor de inhibición del 39.7%.

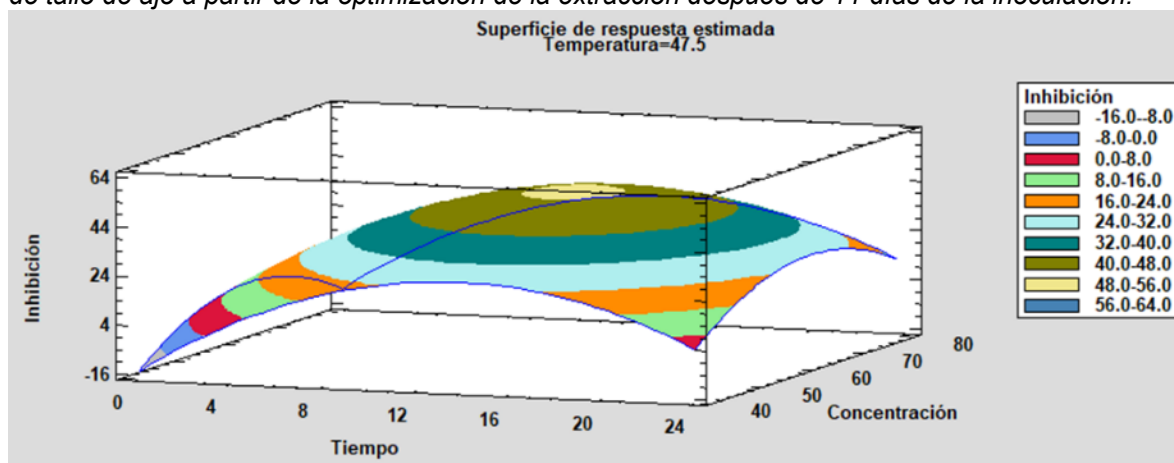
Tabla 3 Evaluación in vitro de la capacidad antifúngica de extractos de tallo de ajo obtenidos del proceso de optimización contra *C. gloeosporioides* tras 11 días a partir de la inoculación. (El % de inhibición corresponde a la media de dos réplicas)

Tratamientos	Control	24h 40% 47.5°	1 h 60% 25°	12.5h 60% 47.5°	1h 60% 70°	1h 40% 47.5°
% de inhibición		9.84%	-4.15%	50.14%	-5.85%	-4.34%
Réplica 1						
Réplica 2						
Tratamientos	Control	12.5h 60% 47.5°	12.5h 80% 70°	24h 60 %70°	12.5h 40% 70°	24h 80% 47.5°
% de inhibición		50.20%	39.76%	11.13%	19.13%	7.64%
Réplica 1						
Réplica 2						
Tratamientos	Control	12.5h 80% 25°	12.5h 60% 47.5°	24h 60% 25°	1h 80% 47.5°	12.5h 40% 25°
% de inhibición		4.68%	44.37%	4.60%	-9.75%	-13.43
Réplica 1						
Réplica 2						

Chávez-Quintal et al. (2011) reportaron la actividad antifúngica de extractos de hojas y semillas de papaya contra *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizopus stolonifer* y *Fusarium sp.*; y demostraron su relación con el alto contenido de alcaloides mientras que Fortunata et al. (2019) realizaron un análisis cualitativo de los compuestos fitoquímicos presentes en extractos de cáscara de ajo. Reportaron no haber detectado la presencia de alcaloides tanto en extractos etanólicos como acuosos, mientras que sí detectaron saponinas en los dos tipos de extracto. Los autores mencionan que las saponinas del ajo tienen actividad antifúngica. Zhi-Hui & Rui (2008) mencionan que el extracto acuoso de paja de ajo inhibió la aplicación la tasa de proliferación de algunos hongos como *Fusarium oxysporum f. sp. niveum*, *Fusarium oxysporum f. sp. cucumeri num* y *Phytophthora capsic* y *P. capsici*. con el cual fue más eficaz.

El grafico de superficie de respuesta 5 y 6 de efectos principales, presentan los resultados actividad antifúngica de los extractos de tallo de ajo obtenidos a partir de la optimización del proceso. En el grafico 5 de superficie de respuesta se presenta que a partir de una temperatura constante de extracción de 47.5°C las variables de respuesta tiempo y concentración fueron probadas a diferentes niveles y se pudo comprobar que, si hay diferencia significativa entre cada una de las combinaciones de valores, dentro del diseño experimental se observa entre el 48 y 56% de inhibición pudiendo predecir hasta maximo un 64% de inhibición.

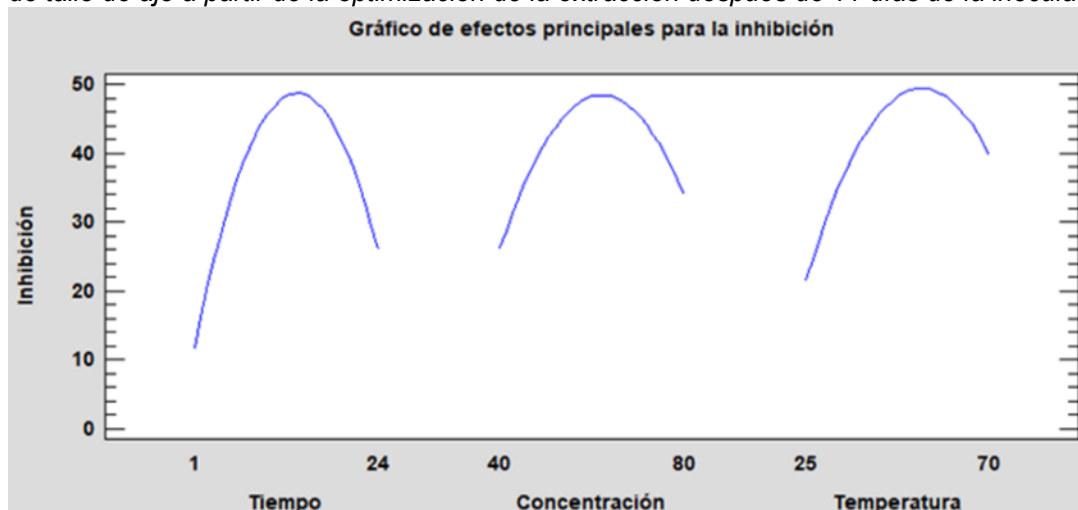
Gráfico 3 Inhibición del crecimiento de *C. gloeosporioides* en medio PDA envenenado con extracto de tallo de ajo a partir de la optimización de la extracción después de 11 días de la inoculación.



Dentro de los efectos principales de las variables de respuesta (grafico 6) muestra que los valores medios de cada una de las variables; tiempo de maceración entre 12 y 16 h a temperatura de 47.5°C y concentración etanolica de entre 55 y 65% están en el rango del extracto con mayor actividad antifúngica, se consideró que el porcentaje de inhibición es el criterio más importante para escoger el extracto óptimo.

Enyiukwu et al. (2014) mencionan que uno de los mecanismos que han sido mayoritariamente observados consiste en la capacidad de algunos extractos de plantas para modificar la permeabilidad en las estructuras de las membranas de los patógenos, lo que conlleva una pérdida de estabilidad y, por ende, la eventual pérdida del material citoplasmático.

Gráfico 4 Inhibición del crecimiento de *C. gloeosporioides* en medio PDA envenenado con extracto de tallo de ajo a partir de la optimización de la extracción después de 11 días de la inoculación



A continuación, en la tabla 4 se observan los valores de cada una de las variables de respuesta para el extracto óptimo, se infiere que el contenido de TEAC y TPC dentro del diseño experimental propuesto no presentan diferencias significativas, mientras que las condiciones de tiempo, temperatura y condiciones de macerado si interfieren en él %de inhibición dando como resultado óptimo el tratamiento pretratado con explosión a vapor durante 15 min, concentración etanólica del 60%, 12.5 h de macerado a 47.5°C. Es importante determinar que concentración de este extracto óptimo es necesaria para mantener su función fungicida contra *C. gloeosporioides*.

Tabla 4 Valores obtenidos en variables de respuesta del extracto óptimo

Variable de respuesta	Tratamiento:	
	12.5 h	60% EtOH 47.5°C
% Inhibición	48.24 ± 0.02	
TEAC DPPH (μmolTrolox/ g de extracto)	334.81 ± 11.48	
TPC (mgGAE/ g de extracto)	12.45 ± 0.73	

CONCLUSIONES

A partir de la merma de tallo de ajo que se produce después del procesamiento de ajo se demostró la viabilidad para la extracción y uso de compuestos bioactivos con actividad antifúngica contra *C. gloeosporioides* y capacidad antioxidante, esta propuesta de revalorización propone la aplicación del extracto en papaya maradol en etapa poscosecha.

La optimización de la extracción que se realizó mediante el método Box-Behnken demostró que las variables concentración de solvente, temperatura y tiempo de agitación si influyen en el porcentaje de capacidad antifúngica pero no en la actividad antioxidante TAC DPPH ni en el contenido de compuestos fenólicos TPC como se observó después de los análisis de varianza (ANOVA) y comparaciones de media donde se utilizó el software Minitab 19.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. G. Evans, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
2. T. Kreis, "Speckle Metrology," in *Holographic Interferometry* (Akademie Verlag Inc., New York, NY, 1996), Chapter 4, pp. 125-149.
3. R. P. Singh, "Botanicals in pest management: an ecological perspective". En: *Dhaliwal, G.S.; SINGH, B.; (ed.). Pesticides and Environment*. Commonwealth Publishers, Nueva Delhi. 2000, pp.279-343
4. H. V. B De Alameida, J. S Marinho-Prado, K.L Nechet, M. A. M Boechat, W. Bettiol, "Defensivos Agrícolas Naturais Uso e Perspectivas", EMBRAPA. 2016, 853 p.
5. D. Singh, *Advance in Plant Biopesticides*. Springer. 2014, 401 p.
6. O. Koul, S. Walia, "Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control", *CAB Reviews: Perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources*, 4(49), 2009. 1-30.
7. W. Bettiol, M. C. Rivera, P. Mondino, J. R. Montealegre, Y. Colmenarez, "Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe". Facultad de Agronomía Universidad de la República, Montevideo. 2014, 404 p.
8. C. Jeyalakshmi, D. Dinakaran, C. Rettinassababady, "Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases". En: Ganesan, S.;

- Vadivel, K.; Jayaraman, J. (ed.). Sustainable Crop Disease Management Using Natural Products. Cabi. 2015.
9. Hussain TA, Mathew TC, Dashti AA, Asfar S, Al-Zaid N, Dashti HM. Effect of low-calorie versus low-carbohydrate ketogenic diet in type 2 diabetes. *Nutrition*. 2012 Oct;28(10):1016-21. doi: 10.1016/j.nut.2012.01.016. Epub 2012 Jun 5. PMID: 22673594.
10. Duraisamy Saravanakumar, D. S., Loganathan Karthiba, L. K., Rajendran Ramjegathesh, R. R., Kuppusami Prabakar, K. P., & Thiruvengadam Raguchander, T. R. (2015). Characterization of bioactive compounds from botanicals for the management of plant diseases. In Sustainable crop disease management using natural products (pp. 1–18). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781780643236.0001>
11. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Carlos Parajó, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. In *Food Chemistry* (Vol. 72, Issue 2, pp. 145–171). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
12. Ncama, K., Mditshwa, A., Tesfay, S. Z., Mbili, N. C., & Magwaza, L. S. (2019). Topical procedures adopted in testing and application of plant-based extracts as biofungicides in controlling postharvest decay of fresh produce. In *Crop Protection* (Vol. 115, pp. 142–151). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.09.016>
13. Fortunata, S. A., Rahmawati, D., & Andika, D. (2019). Evaluation of Phytochemical Activities of Aqueous and Ethanolic Garlic Peel Extract. *Journal of Functional Food and Nutraceutical*, 1(1), 41–46. <https://doi.org/10.33555/jffn.v1i1.20>
14. Gupta, N., & Jain, S. K. (2014). Storage behavior of mango as affected by post harvest application of plant extracts and storage conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2499–2507. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0774-0>
15. Naqvi, S. A. Z., Irfan, A., Zahoor, A. F., Zafar, M., Maria, A., Chand, A. J., & Ashfaq, S. (2020). Determination of antimicrobial and antioxidant potential of agro-waste peels. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 92(2), 1–12. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181103>
16. Sudheeran, P. K., Ovadia, R., Galsarker, O., Maoz, I., Sela, N., Maurer, D., Feygenberg, O., Oren Shamir, M., & Alkan, N. (2020). Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. *New Phytologist*, 225(4), 1788–1798. <https://doi.org/10.1111/nph.16251>
17. Viglianisi, C., & Menichetti, S. (2019). Chain Breaking Antioxidant Activity of Heavy (S, Se, Te) Chalcogens Substituted Polyphenols. *Antioxidants* 2019, Vol. 8, Page 487, 8(10), 487. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX8100487>
18. Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Manuel Domínguez, J., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Carlos Parajó, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. In *Food Chemistry* (Vol. 72, Issue 2, pp. 145–171). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
19. Chávez-Quintal, P., González-Flores, T., Rodríguez-Buenfil, I., & Gallegos-Tintoré, S. (2011). Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 54–60. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0086-5>
20. Zhi-Hui, C., Fei, T., & Rui, J. (2008). Primary study on the inhibitory effects on plant pathogen and the inhibitory ingredient of garlic straw aqueous extracts, *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 02.
21. Enyiukwu, D. N., Awurum, A. N., & Nwaneri, J. A. (2014). Efficacy of plant-derived pesticides in the control of myco-induced postharvest rots of tubers and agricultural products : A review. *Net Journal of Agricultural Science*, 2(1), 30–46.

APLICACIÓN DE CERIO (CE) FOLIAR EN TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) CV. CID F1

Ángel Mena-García^{1*}, Libia I. Trejo-Téllez¹, Fernando C. Gómez-Merino², María Guadalupe Peralta-Sánchez¹, Alejandro Alarcón¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Edafología, Texcoco, Estado de México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Fisiología Vegetal, Texcoco, Estado de México
angelmegar@hotmail.com

RESUMEN

Los bioestimulantes de plantas favorece el crecimiento, el rendimiento de los cultivos y la calidad de la cosecha. El cerio (Ce) es un elemento benéfico que ejerce en la planta una respuesta favorable cuando se suministra a bajas concentraciones en forma iónica o en forma de nanopartículas (NPs); sin embargo, el rango de dosis con efectos horméticos depende de la fuente utilizada, el cultivo y la forma de aplicación. En este estudio se evaluó la respuesta de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. CID F1) a la aplicación foliar de seis dosis de Ce (0, 50, 100, 150, 200 y 300 μM suministrado como $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en la altura de la planta, los valores SPAD y el número de botones florales por planta. Se condujo en invernadero un experimento distribuido completamente al azar. Los tratamientos se suministraron durante 21 d, con un total de siete aplicaciones. El ANOVA indicó que no hubo diferencia estadística significativa en la altura de la planta; mientras que en los valores SPAD y el número de botones florales mostró diferencias significativas. Los valores SPAD incrementaron 6.54, 6.88, 8.49 y 6.56% cuando se aplicaron las dosis 50, 100, 200 y 300 μM Ce, respectivamente, en comparación con el testigo sin Ce. El número de botones florales incrementó significativamente solo con la aplicación de 200 μM Ce. Se concluyó que, bajo nuestras condiciones experimentales, las dosis de Ce estudiadas no tuvieron efectos negativos en las variables evaluadas; además que, la adición de Ce incrementa los valores SPAD y la aplicación de 200 μM Ce induce el desarrollo de botones florales en tomate cv. CID F1.

INTRODUCCIÓN

Los bioestimulantes de plantas (BP) son sustancias o microorganismos que contienen uno o más ingredientes activos o microorganismos en su formulación y que son aplicados con el objetivo de mejorar el crecimiento, rendimiento de los cultivos y la calidad de los frutos, principalmente bajo estrés abiótico (Sible *et al.*, 2021).

Los elementos de las tierras raras (ETR) son un grupo químico que incluye a los lantánidos, al escandio (Sc) y al itrio (Y); se distinguen por presentar características físicas y químicas similares (Ramos *et al.*, 2018). El cerio (Ce) es uno de los elementos que pertenece a este grupo y ha mostrado ser un elemento benéfico y bioestimulante inorgánico; es decir, no es requerido para el crecimiento de las plantas, pero su aplicación en las concentraciones adecuadas propicia un efecto estimulante en el crecimiento y desarrollo.

Los efectos benéficos del Ce siguen una respuesta hormética, donde altas concentraciones ocasionan efecto adversos y bajas concentraciones potencian el crecimiento y la adaptación de los cultivos ante situaciones ambientales desfavorables (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018). Este elemento puede ser aplicado a las plantas de forma directa al suelo, por medio de la solución nutritiva o de manera foliar, usando como fuente compuestos inorgánicos que pasan a su forma iónica en disolución en agua o en forma de nanopartículas (NPs), las cuales en algunos casos cuando su tamaño es superior al poro estomático o a los poros de la pared celular tienen que pasar por un proceso de disolución para ser absorbidas y transportadas dentro de las plantas (Zhang *et al.*, 2017). Además, el éxito de la aplicación de Ce es influenciado por muchos factores, entre los cuales incluye la fuente utilizada (NPs o sal inorgánica), el cultivo, genotipo y la forma de aplicación (Gómez-Merino y Trejo-Téllez, 2018). El suministro de soluciones de Ce foliar preparadas a partir de sales

inorgánicas, mantienen al Ce en forma soluble y disminuye la limitación de absorción que puede tener el Ce cuando se suministra en forma de NPs o iónica al suelo, puesto que elimina la interacción que puede tener con las propiedades físicas y químicas del mismo (Majumdar *et al.*, 2016; Moreira *et al.*, 2019), incrementa las probabilidades de generar una respuesta favorable en las plantas y puede facilitar la identificación de dosis horméticas en cultivos y cultivares específicos.

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación consistió en evaluar la respuesta de la aplicación foliar de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en el crecimiento de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. CID F1.

PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de realización de experimento y diseño experimental

El experimento se realizó en el invernadero del área de Microbiología de Suelo del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo en Texcoco, Estado de México. Para la obtención de material, vegetal, se germinaron semillas de tomate cv. CID F1 en turba contenida en almácigos de poliestireno de 200 cavidades. El riego de las semillas se mantuvo con agua destilada hasta que las plantas comenzaron a desarrollar su primera hoja verdadera. Posteriormente, las plantas se regaron con solución nutritiva Steiner al 25 % (pH 5.8) y hasta alcanzar 50 % (Steiner, 1961) durante 25 d. Las plantas se trasplantaron a macetas de 9 pulgadas que contenían agrolita como sustrato, el cual previamente se lavó con agua de la llave. A partir de estas plantas se diseñó un experimento distribuido completamente al azar y conformado por seis tratamientos consistentes en dosis de Ce (0, 50, 100, 150, 200 y 300 μM Ce) con ocho repeticiones cada uno, en el que una unidad experimental se consideró una planta. Las dosis de Ce y la frecuencia de aplicación se seleccionaron con base en investigaciones previas (Xie *et al.*, 2019).

Aplicación de tratamientos y evaluación de las variables

Las plantas recién trasplantadas se regaron durante 5 d con solución nutritiva Steiner 50 % pH 5.8. Después se aplicaron vía foliar las soluciones de Ce, preparadas a partir de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) y adicionados con 0.1 % Tween™ 20 (p/v) como surfactante. Se realizaron un total de siete aplicaciones durante los 21 d que duró el experimento. Las plantas se regaron con solución nutritiva Steiner al 50, 60 y 75 %, en la primera, segunda y tercera semana, respectivamente. En todos los casos el valor de pH fue ajustado a 5.8. Después de los 21 d se midió la altura de las plantas, los valores SPAD con un medidor de clorofila portátil SPAD-502® (Minolta; Tokio, Japón) con tres mediciones por planta, efectuadas en la sexta, séptima y octava hojas; y se contabilizó el número de botones florales por planta.

Análisis de datos

Los datos obtenidos de cada variable se sometieron al análisis de varianza (ANOVA, $p \leq 0.05$) para determinar efecto de los tratamientos y posteriormente se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$). Los análisis se realizaron con el paquete estadístico R versión 4.1.1 (R Core Team, 2021).

RESULTADOS

El efecto del tratamiento foliar con Ce no fue significativo en la altura de la planta; por el contrario, la aplicación de Ce tuvo efecto significativo en los valores SPAD y el número de botones florales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Significancia del tratamiento foliar con distintas dosis de Ce en la altura de la planta, los valores SPAD y el número de botones florales de plantas de tomate cv. CID F1.

Variable	Significancia	CV	df
Altura de la planta	ns	5.48	5
Valores SPAD	0.0060**	4.10	5
Botones florales	0.0300*	26.38	5

ns: no significativo; *: significativo ($p \leq 0.05$); **: altamente significativo ($p \leq 0.01$).

El tratamiento con Ce puede ocasionar respuesta diferencial en los cultivos. De manera coincidente a los resultados obtenidos en este estudio en la altura de la planta en tomate CID F1, en *Brassica rapa*, las NPs-CeO₂ no tuvieron influencia en la altura de las plantas durante la etapa vegetativa; no obstante, si indujeron un cambio en la respuesta a nivel fisiológico y bioquímico (Ma *et al.*, 2015). Asimismo, en frijol la aplicación foliar cada dos días durante 17 d de NPs-Ce y de Ce⁺³ preparado a partir de CeCl₃ no generaron cambios en indicadores de crecimiento en etapa vegetativa (Xie *et al.*, 2019).

De acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey, las dosis de Ce ejercieron un cambio en los valores SPAD de las hojas y el número de botones florales de las plantas. El índice de verdor es un indicador indirecto para medir el estado nutricional de nitrógeno y de la concentración de clorofila en las hojas. Este indicador permite conocer de manera indirecta el mantenimiento de la integridad de la clorofila bajo diferentes situaciones de crecimiento fisiológico y de su capacidad para absorber luz (Rolando *et al.*, 2015). Los valores SPAD incrementaron significativamente en todas las concentraciones usadas, con excepción de la adición de 150 μ M Ce que no fue estadísticamente diferente al testigo. La aplicación foliar de 50, 100, 200 y 300 μ M Ce, incrementaron los valores SPAD en 6.54, 6.88, 8.49 y 6.56 %, respectivamente, en comparación con las plantas sin aplicación de Ce (Figura 1A).

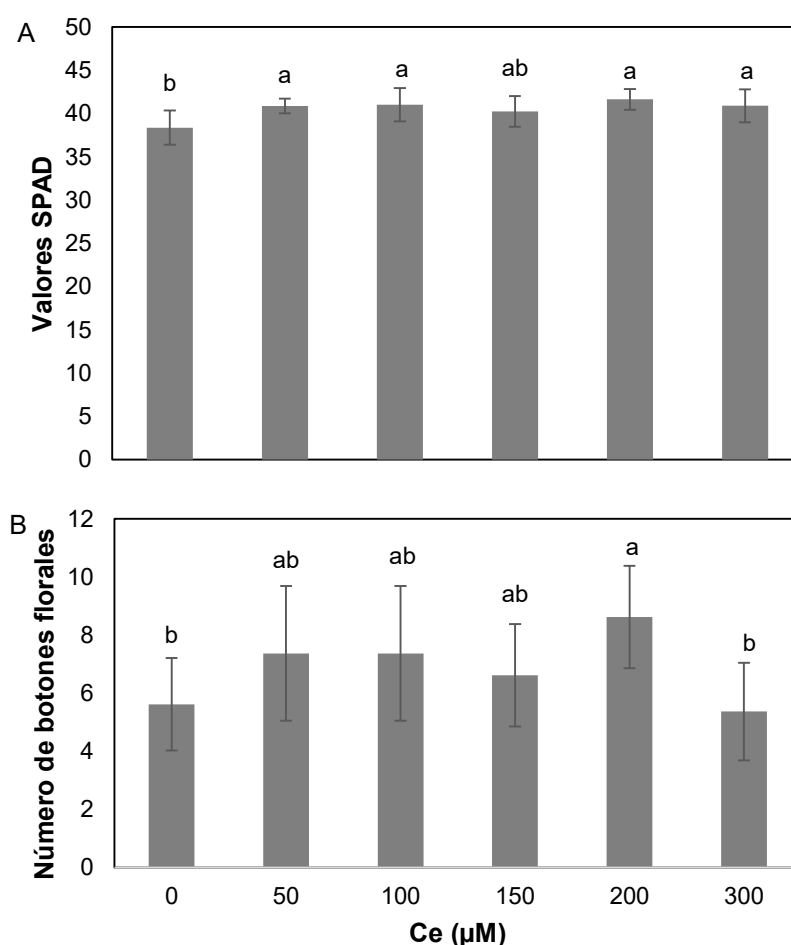


Figura 1. Valores SPAD (A) y número de botones florales (B) de plantas de tomate cv. CID F1 tratadas con diferentes dosis de Ce foliar. Media $\pm$ DE con letra diferente en cada subfigura indican diferencia estadística significativa (Tukey, $p \leq 0.05$), $n=8$.

Por otra parte, el número de botones florales incrementó aproximadamente 53.5 % solo en plantas tratadas con 200 μM Ce, mientras que el resto de los tratamientos no hubo cambios en el desarrollo de botones florales (Figura 1B). Estos eventos que promueven la floración en tomate podrían estar asociados a un cambio en la concentración hormonal en los tejidos, principalmente de las giberelinas, las cuales están encargadas de controlar la expresión de factores de transcripción que activan genes de floración (Silva *et al.*, 2019). En pepino, previamente se informó de la inducción de la floración causada por la aplicación de 10 mg de NPs-Ce kg^{-1} de suelo; lo anterior, derivado del incremento en la concentración de AIA y una asignación del metabolismo de la inducción floral (Feng *et al.*, 2023). Sin embargo, aún hace falta conocer los efectos del Ce en la concentración de giberelinas y la modificación en la expresión de genes de floración.

CONCLUSIONES

Las dosis de Ce aplicadas vía foliar empleadas en la presente investigación no tuvieron efectos en la altura de la planta. La aplicación de Ce incrementa de manera significativa los valores SPAD; mientras que, la aplicación foliar de 200 μM Ce promueve el desarrollo de botones florales en las plantas de tomate cv. CIDF1.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Steiner, "The Universal Nutrient Solution", Proceedings of the 6th International Congress on Soilless Culture; Lunteren, The Netherlands: I. S. O. S. C, 1984. pp. 633–664.
2. C. G. Moreira, T. S. Carvalho, C. Oliveira, L. B. de Abreu, A. C. S. Castro, P. G. Ribeiro, F. H. A. Bispo, C. Boutin, & L. R. G. Guilherme, "Ecological risk assessment of cerium for tropical agroecosystems", *Chemosphere*, Vol. 221, pp. 124–131, 2019. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.195>.
3. C. N. Sible, J. R. Seebauer & F. E. Below, "Plant biostimulants: A categorical review, their implications for row crop production, and relation to soil health indicators". *Agronomy*, Vol. 11, 1297, 2021. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071297>.
4. C. Xie, Y. Ma, J. Yang, B. Zhang, W. Luo, S. Feng, J. Zhang, G. Wang, X. He & Z. Zhang, "Effects of foliar applications of ceria nanoparticles and CeCl_3 on common bean (*Phaseolus vulgaris*)", *Environmental Pollution*, Vol. 250, pp. 530–536, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.042>.
5. F. C. Gómez-Merino & L. I. Trejo-Téllez, "The Role of Beneficial Elements in Triggering Adaptive Responses to Environmental Stressors and Improving Plant Performance," En *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants* (Springer, Singapore, 2018), Chapter 6, pp. 137–172. https://doi.org/10.1007/978-981-10-9029-5_6.
6. G. F. F. Silva, E. M. Silva, J. P. Correa, M. H. Vicente, N. Jiang, M. M. Notini, A. C. Junior, F. A. Jesus, P. Castilho, E. Carrera, I. López-Díaz, E. Grotewold, L. E. P. Peres & F. T. S. Nogueira, "Tomato floral induction and flower development are orchestrated by the interplay between gibberellin and two unrelated micro RNA-controlled modules", *New Phytologist*, Vol. 221, pp. 1328–1344, 2019. <https://doi.org/10.1111/nph.15492>.
7. J. L. Rolando, D. A. Ramírez, W. Yactayo, P. Monneveux & R. Quiroz, "Leaf greenness as a drought tolerance related trait in potato (*Solanum tuberosum* L.)", *Environmental and Experimental Botany*, Vol. 110, pp. 27–35, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.09.006>.
8. S. Majumdar, J. R. Peralta-Videa, J. Trujillo-Reyes, Y. Sun, A. C. Barrios, G. Niu, J. P. Flores-Margez & J. L. Gardea-Torresdey "Soil organic matter influences cerium translocation and physiological processes in kidney bean plants exposed to cerium oxide nanoparticles" *Science of the Total Environment*, Vol. 569, pp. 201–211, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.087>.
9. S. R. Ramos, G. S. Dinali, C. Oliveira, G. C. Matins, C. G. Moreira, J. O. Siqueira & R. G. Guilherme, "Rare Earth Elements in the Soil Environment", *Current Pollution Reports*, Vol. 2, pp. 28–50, 2016. <http://doi.org/10.1007/s40726-016-0026-4>.
10. W. Zhang, Y. Dan, H. Shi & X. Ma, "Elucidating the mechanisms for plant uptake and in-plant speciation of cerium in radish (*Raphanus sativus* L.) treated with cerium oxide

- nanoparticles”, Journal of Environmental Chemical Engineering, Vol. 5, pp. 572–577, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.036>.
11. X. Ma, Q. Wang, L. Rossi & W. Zhang, “Cerium oxide nanoparticles and bulk cerium oxide leading to different physiological and biochemical responses in *Brassica rapa*”, Environmental Science & Technology, Vol. 50, pp. 6793–6802, 2016. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04111>.
 12. Y. Feng, C. Wang, F. Chen, X. Cao, J. Wang, L. Yue & Z. Wang, “Cerium oxide nanomaterials improve cucumber flowering, fruit yield and quality: the rhizosphere effect”, Environmental Science: Nano, Vol. 10, pp. 2010–2021, 2023. <https://doi.org/10.1039/D3EN00213F>.

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA DE KOMBUCHA: IMPACTO DE LA FUENTE DE CARBONO, TEMPERATURA E INÓCULO

Ma. Guadalupe Garnica Romo¹, Rafael Contreras Chávez¹ y Héctor Eduardo Martínez-Flores¹

¹ Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
gromar05@yahoo.com.mx

RESUMEN

La celulosa, un polímero natural ampliamente conocido, ha sido tradicionalmente extraída de plantas o sus residuos. Sin embargo, se han explorado fuentes alternativas como las bacterias presentes en fermentaciones como el té kombucha. En este contexto, el té funcional se fermenta mediante un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras, conocido como SCOBY por sus siglas en inglés (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast), donde se forma una película de celulosa¹. Para este estudio, se aplicó un diseño experimental y análisis estadístico mediante el software Statgraphics Centurion XVI para elaborar una superficie de respuesta con diseño experimental central compuestos+puntos estrellas. El diseño generó 17 corridas experimentales, y utilizó factores de proceso para evaluar el efecto de las variables independientes (inóculo, fuente de carbono y temperatura) sobre las variables de respuesta. Los difractogramas de celulosa revelaron picos característicos asignados a planos cristalográficos específicos correspondientes a los ángulos de difracción de 17°, 19° y 27° del polimorfismo I de la celulosa. A través de la optimización de superficie de respuesta, utilizando una combinación específica de 66.27 ml té de arranque, 22.37 g de glucosa y 38.4 °C de temperatura, se logró obtener celulosa bacteriana con propiedades específicas, tales como 3.9% de solubilidad, 399% de hinchamiento, 4 MPa de Fuerza de tensión, 3.8% de elongación y 27 gr/msMPa de permeabilidad al vapor de agua. Se identificó que la producción de celulosa está influenciada por diversos factores. Se observaron cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas de las películas de celulosa al variar las concentraciones de glucosa en el medio de cultivo. Además, las variaciones en el té de arranque afectaron parámetros como elongación, fuerza de tensión, hinchamiento y permeabilidad al vapor de agua. Las variaciones de temperatura dentro del rango establecido (25-30°C) mostraron efectos en la fuerza de tensión, elongación, permeabilidad al vapor de agua y rendimientos. La celulosa obtenida exhibió una estructura tridimensional en forma de red con espacios intersticiales significativos entre las fibras, lo que confiere propiedades notables en comparación con la celulosa de origen vegetal. Estas propiedades incluyen alta resistencia mecánica, mayor cristalinidad, pureza, capacidad de retención de agua, biodegradabilidad y biocompatibilidad.

INTRODUCCIÓN

La celulosa, el polímero natural más prevalente en el planeta Tierra, constituye alrededor del 40% al 50% de todas las reservas de biomasa del mundo. Según estimaciones, la producción anual de celulosa a través de la fotosíntesis alcanza aproximadamente 10¹² toneladas (Yi *et al.*, 2020). Desde un punto de vista estructural, se compone de una cadena rígida y lineal unida por β-D-glucopiranosas mediante enlaces 1,4-glucosídicos. La elevada demanda de este recurso ha desencadenado deforestación y desequilibrios ecológicos en diversas regiones del mundo, además del uso indiscriminado de productos químicos peligrosos para el medio ambiente. Por lo tanto, es crucial avanzar en el desarrollo y la búsqueda de nuevos métodos para la obtención de celulosa. En la actualidad, se están explorando fuentes alternativas para estas bacterias en productos que emplean fermentación, como la kombucha. Esta bebida se obtiene tradicionalmente mediante la fermentación de hojas de té negro y verde endulzadas, lo que produce un producto con un sabor dulce, ligeramente ácido y altamente apreciado sensorialmente. Durante el proceso de fermentación, se utiliza un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (conocido como SCOBY) en un medio que incluye extracto de té y una fuente de azúcar. Este proceso tiene una duración de 7 a 10 días, durante los cuales se forma una capa de celulosa en la interfaz aire-líquido. La celulosa resultante crea una estructura tridimensional en forma de red con numerosos espacios entre las fibras, formando así una matriz porosa. Esta configuración confiere propiedades notablemente significativas, como una alta

resistencia mecánica, mayor cristalinidad y pureza, una capacidad elevada de retención de agua, biodegradabilidad y biocompatibilidad, en comparación con la celulosa de origen vegetal (Laavanya *et al.*, 2021; Soares *et al.*, 2021). Por lo que el objetivo de este estudio fue la producción de celulosa bacteriana obtenida del té de kombucha, utilizando la metodología de superficie de respuesta para optimizar algunas condiciones claves de la fermentación, además de analizar su comportamiento al formar biopelículas.

TEORÍA

Entre las fuentes importantes, pero poco estudiadas para la obtención de celulosa de origen bacteriano se encuentran los fermentos probióticos, destacando el té de kombucha. Esta bebida se elabora tradicionalmente a partir de la fermentación de hojas de té negro y verde endulzadas, produciendo un producto con un sabor dulce, ligeramente ácido y muy apreciado sensorialmente. Sus orígenes se remontan al año 220 a.C. en la región de Manchuria durante la dinastía Qin. Desde entonces, se ha extendido por todo el mundo, donde se ha utilizado como un remedio eficaz en las comunidades rurales. En la actualidad, es conocido en todo el mundo. La fermentación del té se lleva a cabo mediante un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras, conocido como SCOBY (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast), que forma una película de celulosa. Este material, la celulosa, presenta características muy atractivas, pero poco estudiadas, ya que la mayoría de los estudios se centran en los componentes líquidos como flavonoides, catequinas, taninos y aceites esenciales, enfocados en la prevención de enfermedades. Sin embargo, el SCOBY produce uno de los materiales con mejores propiedades, la celulosa bacteriana, sintetizada principalmente por bacterias del género *Acetobacter*. La celulosa resultante forma una estructura tridimensional de red con numerosos espacios entre las fibras, creando una matriz altamente porosa que confiere propiedades significativas en comparación con la celulosa vegetal, como una alta resistencia mecánica, mayor cristalinidad y pureza, alta capacidad de retención de agua, biodegradabilidad y biocompatibilidad (Soares *et al.*, 2021).

PARTE EXPERIMENTAL

Producción de celulosa bacteriana

Se empleó un SCOBY y té fermentado de la marca Kombucha House de la Ciudad de México para producir celulosa bacteriana. Siguiendo las instrucciones del fabricante, se preparó una muestra utilizando 4 litros de agua destilada hervida y enfriada, a la que se añadieron 7 bolsas de té verde (2g cada una, marca Therbal) y 250 g de azúcar. Una vez que la solución alcanzó los 30°C, se incorporaron 50 g de SCOBY y 250 mL de té previamente fermentado. La mezcla se cubrió con tela de gasa y se dejó reposar a 25°C durante 15 días. Después de la fermentación, se separó la capa formada, conocida como SCOBY, compuesta principalmente de celulosa, para su posterior procesamiento.

Purificación de celulosa

Se aplicó la técnica de purificación de celulosa descrita por Nascimento *et al.* (2016), con adaptaciones. El SCOBY se trituró en una licuadora en una proporción 1:1 con agua destilada. Luego, se trató con agua caliente a 80°C durante una hora, se enfrió y decantó para su posterior blanqueo. Para este proceso, la pasta de celulosa se expuso en hidróxido de sodio (NaOH) al 5% (p/v) a 90°C durante 60 minutos, con agitación constante a 90 rpm. Después de eso, se lavó y se sumergió en una solución de ácido peracético a 60 °C, con agitación a 90 rpm durante 24 horas. El material se filtró al vacío y se sometió a diálisis en agua destilada durante 36 horas hasta alcanzar un pH entre 6 y 7, obteniendo así un gel de celulosa.

Finalmente se procedió a secar la celulosa a 35 °C durante 24 horas en un horno con circulación de aire.

Determinación de la dispersión y el grado de hinchamiento de la celulosa

Se prepararon fragmentos de 1 cm², los cuales fueron puestos a peso constante en un horno de aire caliente para obtener el peso inicial de la película. Posteriormente, las muestras se sumergieron en

un recipiente con 50 ml de agua destilada y se mantuvieron en agitación en un agitador orbital durante 24 h. Finalmente se secaron a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ hasta que se obtuvo un peso constante. El porcentaje de la solubilidad total de las películas se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{w_i - w_f}{w_i} \times 100$$

donde, w_i y w_f representan el peso seco inicial y final.

El hinchamiento de las películas se cuantificó colocando trozos de 1 cm^2 a peso constante (W_1) en recipientes con 50 ml de agua destilada durante 24 h a 25°C . A continuación, las películas se secaron superficialmente con papeles de filtro, y luego se pesó la película húmeda (W_2). El grado de hinchamiento se calculó usando la siguiente ecuación

$$\text{Grado de hinchamiento (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

Permeabilidad al vapor de agua

Se determinó siguiendo el método oficial ASTM D885-02. Se cubrieron con las películas frascos cilíndricos que contenían 5 g de cloruro cálcico. Los recipientes se colocaron en un desecador a una temperatura a 25°C y una humedad relativa del $55 \pm 3\%$. Se cuantificaron cambios de peso a las 24 h. El WVP ($\text{g}/\text{m} \cdot \text{s} \cdot \text{MPa}$) se calculó como se muestra en la siguiente ecuación:

$$WVP = \frac{WVPR - tm}{\Delta p} \times 100$$

Donde $WVTR$ es la tasa de transmisión de vapor de agua ($\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$) a través de la película, tm es el espesor medio de la película y Δp es la diferencia de presión de vapor de agua parcial (MPa) a través de los dos lados de la película.

Análisis de las propiedades físicas y mecánicas de las películas

Para determinar la resistencia a la tracción, el alargamiento a la rotura y la fuerza máxima se utilizó el estándar ASTM D 882-02. La resistencia a la tracción se calculó dividiendo la fuerza máxima de rotura de la película por el área de la sección transversal de la película. La elongación en la ruptura se determinó dividiendo la diferencia de la distancia final recorrida hasta la ruptura y la distancia inicial de separación por la distancia inicial de separación multiplicada por 100.

$$TS = \frac{Fm}{A}$$

Dónde; TS.- resistencia a la tracción (MPa); Fm .- fuerza máxima en el momento de la rotura (N); A .- área de la sección transversal de la película (mm^2)

$$\% \text{Elongación} = \frac{(do - df)}{do} \times 100$$

Dónde; E .- elongación (%); do .- distancia inicial de separación entre garras (cm); df .- distancia a la ruptura (separación entre las garras en el momento de la ruptura) (cm).

Difracción de rayos X

Se analizaron las muestras utilizando un difractómetro de rayos X de polvos. El patrón se registró en un rango de ángulo de $2\theta = 0^\circ$ a 45° . El porcentaje de cristalinidad se determinó con el software Origin mediante la integración de cada pico.

Análisis estadísticos

Se aplicó un diseño experimental y análisis estadístico mediante el software *Statgraphics Centurion XVI* para elaborar una superficie de respuesta con diseño experimental central *compuesto+puntos* estrella. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de la regresión a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ para verificar la validez del modelo.

RESULTADOS

Después de analizar el modelo de superficie de respuesta, se identificó una sólida correlación para predecir los factores de fuerza de tensión (MPa), hinchamiento de la celulosa (%), permeabilidad al vapor de agua (g/msMPa), rendimiento de la celulosa BS (g), y solubilidad de la celulosa (%). Sin embargo, los parámetros que mostraron una mejor función de deseabilidad (0.85) fueron el hinchamiento de la celulosa y la permeabilidad al vapor de agua (Fig. 2). Esto condujo a la determinación de las condiciones óptimas. Se logró determinar una optimización simultánea utilizando té de arranque de 66 ml, glucosa 22 g y temperatura de 38 °C. Este modelo de deseabilidad predijo respuestas de 491% de hinchamiento y 34 g/msMPa de permeabilidad al vapor de agua. Finalmente, en la Tabla 1 se muestra la caracterización completa de la celulosa donde se observó, una celulosa con 3.8% de solubilidad, 400% hinchamiento, 4 MPa de fuerza de tensión, 3.8 % elongación, y 27g/msMPa de permeabilidad al vapor de agua.

Fig. 1. Resultados globales del diseño experimental

K	R SCOPY (g)	Rcelulosa (g)	%H celulosa	S celulosa (%)	PVA g/msMPa	FT Mpa	%E	%C	TC
1	83.98	0.90	136.86	8.34	8.03	3.33	3.90	67.08	4.47
2	81.70	0.82	161.50	16.69	8.44	4.62	2.38	79.47	4.36
3	30.23	0.35	143.82	7.66	9.10	3.66	2.19	78.62	4.21
4	28.25	0.26	155.57	24.40	18.98	2.81	2.47	79.30	4.39
5	36.78	0.49	210.74	16.21	12.27	4.63	3.33	69.89	4.36
6	46.46	0.70	182.37	5.41	11.08	2.33	1.96	40.86	4.29
7	15.11	0.06	207.51	12.49	28.39	0.53	1.71	74.34	4.55
8	21.02	0.05	346.20	1.52	37.96	0.70	1.12	69.94	4.13
9	30.59	0.09	374.70	6.48	7.15	0.61	1.42	76.33	4.41
10	17.02	0.07	367.90	42.10	3.44	1.51	2.21	47.08	5.04
11	64.32	0.70	161.17	1.17	7.36	3.40	2.57	76.87	4.25
12	41.62	0.42	138.29	22.47	10.44	3.72	2.11	79.48	4.59
13	37.80	0.36	136.26	11.95	6.44	4.24	3.41	72.31	4.42
14	26.61	0.22	260.75	12.34	6.79	3.91	3.46	72.18	4.40
15	47.42	0.53	130.17	13.83	16.17	3.93	3.23	79.10	4.58
16	29.38	0.29	255.92	8.16	8.31	4.08	2.17	82.55	4.40
17	55.25	0.43	105.68	14.70	8.99	4.19	3.60	64.62	4.47

R SCOPY: rendimiento Scopy en base húmeda. R celulosa: rendimiento celulosa en base seca tras la purificación. %H: porcentaje de hinchamiento. S: solubilidad. PVA: permeabilidad al vapor de agua. FT: fuerza de tensión. %E: porcentaje de elongación. %C: porcentaje de cristalinidad. TC: tamaño del cristalito.

Fig. 2. Deseabilidad del diseño experimental

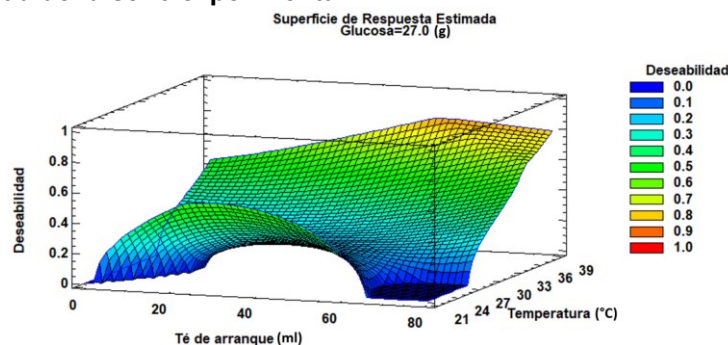


Diagrama de superficie de respuesta para optimización simultánea.

Fig. 2. Deseabilidad del diseño experimental

Tabla. 1. Caracterización de la celulosa optimizada

Factor	Valor*
Solubilidad (%)	3.843 ± 1.49
Hinchamiento (%)	399.32 ± 2.908
FT (MPa)	4.00 ± 0.14
Elongación (%)	3.84 ± 0.90
PVA (gr/msMPa)	27.093 ± 2.90

CONCLUSIONES

Utilizando un diseño de superficie de respuesta central compuesto con puntos de estrella y optimización simultánea, se incrementó en la producción de SCOBY (87.70 g) y celulosa microbiana utilizando 62.66 ml del té de arranque y 11.86 g glucosa, que al formar biopelículas exhibieron 3.8% de solubilidad, 400% hinchamiento, 4 MPa de fuerza de tensión, 3.8 % elongación, y 27g/msMPa de permeabilidad al vapor de agua, las cuales son propiedades de interés para el uso de celulosa en diversas aplicaciones con resultados favorables y con una perspectiva positiva en el uso de biomateriales que reducen la contaminación ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

1. ASTM International. (2002). Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting (Vol. 08.01, ASTM D 882-02). ASTM International. <https://doi.org/10.1520/D0882-02>
2. Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126454>
3. Nascimento, D. M. do, Dias, A. F., Araújo Junior, C. P. de, Rosa, M. de F., Morais, J. P. S., & Figueirêdo, M. C. B. de. (2016). A comprehensive approach for obtaining cellulose nanocrystal from coconut fiber. Part II: Environmental assessment of technological pathways. *Industrial Crops and Products*, 93, 58–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.063>
4. Soares, M. G., de Lima, M., & Reolon Schmidt, V. C. (2021). Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. *Trends in Food Science and Technology*, 110(February), 539–550. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.017>
5. Yi, T., Zhao, H., Mo, Q., Pan, D., Liu, Y., Huang, L., ... Song, H. (2020). From cellulose to cellulose nanofibrils—a comprehensive review of the preparation and modification of cellulose nanofibrils. In *Materials* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3390/ma13225062>

EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE TALLO DE AJO (*ALLIUM SATIVUM*) COMO POSIBLE INHIBIDOR EN ENSAYOS IN VITRO CONTRA *TRICHOPHYTON INTERDIGITALE* ASOCIADO A DERMATOFITOSIS HUMANA

Pedro Sebastián Vargas Cardoso¹, Patsy Suleyma Hernández Olivares², Karla Nallely Rivera Hernández³

Instituto Politécnico Nacional Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA).
pvargasc2200@alumno.ipn.mx

RESUMEN

Allium sativum, también conocido como ajo, es una planta perenne ampliamente utilizada como especia y también considerada, desde la antigüedad, como hierba medicinal. Esta planta presenta propiedades antifúngicas y microbianas gracias los compuestos organosulfurados y polifenoles que resguarda, tiene también diversas propiedades de alto valor comercial. La industria del procesamiento del ajo presenta un porcentaje residual de la producción total de ajo pelado de 22-27 % p/p, esto incluye al tallo como subproducto, que, puede ser utilizado como un buen recurso biológico, sin embargo, se le sigue abandonando o quemando debido que se desconoce su importancia y esto ha producido contaminación en suelos. Por lo que se pretende en este proyecto evaluar la inhibición mediante extractos del tallo de ajo contra *Trichophyton interdigitale*, un dermatofito, este grupo de hongos producen queratinasas, estas les permiten invadir tejidos ricos en queratina, provocando micosis superficiales, mejor conocidas como tiñas. Para ello se utilizó el método comparación de parejas de Fisher donde se evaluó el efecto de 3 factores influyentes en la extracción de compuestos fenólicos y organosulfurados: (selección de solvente, etanol o metanol), (concentración del solvente, 40% 60% y 80%) y (21°C o 4°C en la temperatura de extracción con sonidador). Como variables respuesta se empleó el % de actividad antifúngica realizando ensayos in vitro con dos técnicas, por el método de agar con inhibidores en medio Sabouraud y por el método de difusión de disco. El análisis de datos se procesó en el software Minitab Statistical. Los resultados del experimento proporcionaron como condiciones óptimas de extracción en las variables estudiadas las siguientes: Metanol al 60%, 4°C en la temperatura de extracción con asistencia de baño sónico. Los valores del extracto óptimo con respecto a las variables de respuesta mostraron los siguientes datos; 43.32% de inhibición del crecimiento radial micelia y % 44.36 de inhibición por método por difusión en disco. Estos hallazgos podrían proporcionar información valiosa sobre el potencial de los extractos del tallo del ajo como una alternativa natural y amigable con el medio ambiente para el control de *Trichophyton interdigitale*, conduciendo al desarrollo de nuevos productos antifúngicos más seguros y efectivos para el tratamiento de las infecciones causadas por este hongo

INTRODUCCIÓN

El ajo (*Allium sativum* L.) forma parte de la familia de las aliáceas, siendo un cultivo hortícola de raíz superficial. (Ammarellou et al., 2022). En el continente asiático se concentra la mayor producción mundial de ajo, en países como China, India, Corea del Sur, Bangladesh y Egipto. (Parejo-Moruno et al., 2020) Siendo China quien aporta más de 0,02 mil billones de toneladas anuales, lo que también conlleva abundantes tallos de ajo crudo como subproducto, una causa significativa de contaminación ambiental. Se estima que cerca el 70% de los tallos de ajo son descartados o quemados por los agricultores por considerarlo un residuo (Ghani et al., 2022). México, ocupa la cuarta posición como productor, detrás de Argentina, Brasil y Perú (Velarde-Mendivil et al., 2021). Según lo reportado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la producción anual de ajo verde en México fue de 89791.65 toneladas en el 2021, estimando un porcentaje residual del 22-27 % p/p (Hernández-Varela et al., 2021), hablamos de más de 3,7 millones de toneladas de subproductos de esta planta anualmente (Kallel & Ellouz Chaabouni, 2017).

Todavía no hay un uso generalizado para esta materia, se sigue abandonando o quemando debido a que se desconoce su importancia. Como resultado, no sólo se reduce en gran medida la tasa de utilización del tallo de ajo, sino también contamina. (Han et al., 2013.) En su mayoría, los tallos como las pieles de estas hortalizas se desechan en el campo. (Reddy & Rhim, 2018). Este desecho se

deja secar al sol, obteniendo paja. La paja de ajo se le ha adicionado valor en distintas áreas como en la nutrición animal, uso anticorrosivo, para obtención energía y recurso medioambiental como: enmienda del suelo, control biológico y biomasa para la depuración del agua. (Kallel & Ellouz Chaabouni, 2017). Aún con las alternativas antes mencionada, son pocas las empresas que integran estos procesos a la línea de producción.

Estudios anteriores han demostrado que el tallo de ajo contiene compuestos con bioactividad como: polisacáridos, saponinas, fenoles y sulfuros orgánicos. Estos fitoquímicos los produce la planta de manera natural como mecanismo de defensa ante hongos, parásitos, e insectos. El estudio de estos principios activos es fundamental para entender su alto potencial como inhibidor de infecciones fúngicas, estos generan perturbaciones en la integridad de la membrana plasmática, afectando la biosíntesis de los lípidos y la síntesis del RNA (Trio et al., 2014). En específico, los fenoles y organosulfurados juegan un papel importante en este trabajo, ya que, con la extracción adecuada, se puede evaluar su efecto antimicótico contra dermatofitos como *Trychophyton interdigitale*, un hongo dermatofito, este grupo de hongos producen diferentes tipos de enzimas proteolíticas, especialmente queratinasas, estas les permiten invadir tejidos ricos en queratina, provocando micosis superficiales (conocidas como tiñas). La tinea pedis, es una enfermedad que se transmite por contacto directo con el organismo que la produce, como al caminar descalzos en duchas públicas o complejos de deportivos, los tratamientos actuales hacen uso de fármacos denominados fungicidas, derivados poliénicos que incluyen a la terbinafina, o los fungistáticos que incluyen en su mayoría a los medicamentos azólicos (Prieto-Sandoval et al., 2017). Sin embargo, la pobreza, el hacinamiento y cuestiones culturales juegan un papel importante en la administración indiscriminada de estos, lo cual en muchas ocasiones este tipo de hongos dermatofitos ha adquirido resistencia a estos fármacos.

TEORÍA

Entre los compuestos que se encuentran en el ajo se destaca el agua y los carbohidratos como la fructosa, fibra, aminoácidos libres y compuestos azufrados, este tiene altos niveles de vitaminas A y C y bajos niveles de vitaminas del complejo B, minerales (especialmente P, K y Se, Ge), asimismo posee un alto contenido de compuestos fenólicos, polifenólicos, flavonoides, saponinas (β -clorogenina), óxidos de nitrógeno, amidas, proteínas y fitoesteroles. (Diriba et al. 2014). A diferencia del modelo de economía lineal, el modelo circular plantea el uso de los residuos industriales alimentarios como suministros de estos fotoquímicos de alto valor. (Usmani et al., 2021). Su riqueza está en las propiedades biológicas como antimicrobianas, antivirales, antidiabéticas, antiprotzoarias, antioxidantes, entre otras. (Fidelis et al., 2018). Estos compuestos, son químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, están presentes en una gran variedad de alimentos, se producen en el metabolismo secundario como mecanismo de supervivencia de las plantas y se pueden simplificar en dos grupos: (a) sustancias activas sin azufre y b) compuestos azufrados (Shang et al., 2019).

Los fenoles son compuestos orgánicos presentes en el ajo, estos son unos de los de los principales metabolitos secundarios de las plantas y en sus estructuras moleculares estos contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos un grupo funcional. La clave para la formación de compuestos fenólicos es una enzima, fenilalanina amonio-licasa. Otros compuestos fenólicos como el ácido gálico y sus derivados se forman a partir de la 3-dehidroshikimato vía dehidroshikimato deshidrogenasa. El metabolismo central de la vía fenil propanoide comienza cuando la fenilalanina amonio-licasa convierte la fenilalanina en ácido cinámico y es hidroxilado por el ácido cinámico 4-hidroxilasa. Por último, el ácido 4-cumárico es esterificado por la coenzima A por el ácido 4-cumárico: ligasa CoA. La biosíntesis de flavonoides continúa por la vía de los fenilpropanoides, comenzando con la formación de chalconas mediante una reacción catalizada por chalcona sintetasa con ácido 4-cumárico: CoA y malonil-CoA como sustrato. (Peñarrieta et al., 2014). Estos compuestos también actúan como fitoalexinas, es decir, las plantas heridas secretan estos compuestos para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos. (Creus, 2004). Por otra parte, la planta por si sola puede reducir y asimilar azufre que capta por medio de sus raíces, de ese mecanismo nacen los compuestos b), sulfurados, estos son los responsables del olor, sabor, así como algunas de sus

múltiples actividades biológicas. De todas las especies de *Allium*, el ajo contiene una mayor concentración de compuestos azufrados dándole una actividad antimicrobiana efectiva (Bhandari, 2012).

Estos compuestos organosulfirados se forman a partir de la alina, un compuesto precursor que se encuentra en el citoplasma de células de la planta. El siguiente paso es que alina se convierta en alicina, para esto se necesita la participación de la enzima alinasa (se encuentra en las vacuolas) que, solo se libera de su compartimiento intracelular por daño o lisis celular, o sea, cortando, aplastando o machacando el diente ajo, dando lugar a la formación de un complejo inestable que sufre deshidratación en presencia de un cofactor fosfato de piridoxal produciendo como intermediarios ácido sulfénico, ácido pirúvico y amoníaco. Debido a la inestabilidad del ácido sulfénico, éste sufre auto condensación generando el tiosulfonato de dialilo (alicina) (Trio et al., 2014), una sustancia inestable, incolora y óptimamente activa que le confiere el olor característico al ajo y con múltiples actividades biológicas (Domínguez et al., 2016).

Se ha demostrado que la actividad óptima de la enzima alinasa es en torno a los 35 – 40°C y que cuando esta es sometida a temperaturas de 60°C durante 105 minutos, esta enzima pierde su actividad (Wang et al., 2015). Así que, para la extracción de estos compuestos los tratamientos térmicos disminuyen la biodisponibilidad y las propiedades de estos, lo que pone de manifiesto la inestabilidad que tienen (Putnik, et al., 2019).

Los compuestos mencionados anteriormente y otros más pueden ser recuperados a partir de extracciones, los extractos vegetales, resultan de la mezcla de un disolvente/solvente con materia vegetal, este proceso puede variar dependiendo del órgano seleccionado, tanto vegetativo como reproductor: raíces, flores, tallos, hojas, brotes, raíces (Mesa V.M, 2019). Pueden ser de diferente consistencia: sólida, líquida e intermedia. El método seleccionado para extraer compuestos bioactivos es de gran importancia, se consideran dos tipos, métodos convencionales y no convencionales, los primeros se basan en el uso de diferentes solventes acorde a su polaridad, normalmente con agitación y con la posibilidad de agregar calor de manera externa, así los compuestos de interés se transfieren al solvente mediante difusión o transferencia de masa (Susanti, D, et al., 2022). Para la extracción de la aliína se hace uso de una mezcla ácida de metanol-agua (Nasim et al., 2010) mientras que para la extracción de la alicina se emplea el agua o el etanol (Wang et al., 2015).

En los no convencionales se habla del uso de extracción asistida por microondas, ultrasonido, también el uso de fluidos supercríticos, entre otros (Arroy et al., 2017). La extracción asistida por ultrasonido emplea ondas ultrasónicas que pueden provocar la alteración de las paredes celulares, la reducción del tamaño de las partículas y transferencia de masa mejorada a través de las membranas celulares, la implosión de burbujas de cavitación genera microturbulencias. Además, la cavitación en la superficie del material de origen provoca el impacto de los microchorros, lo que provoca la descamación de la superficie, la erosión y la descomposición de las partículas como se muestra en la (Figura 1) (Shirsath et al., 2012). Una de las ventajas de esta técnica aplicada a la extracción de compuestos del ajo es la mejora de las interacciones que existe entre la enzima alinasa y su sustrato aliína favoreciendo la formación de los compuestos organosulfurados.

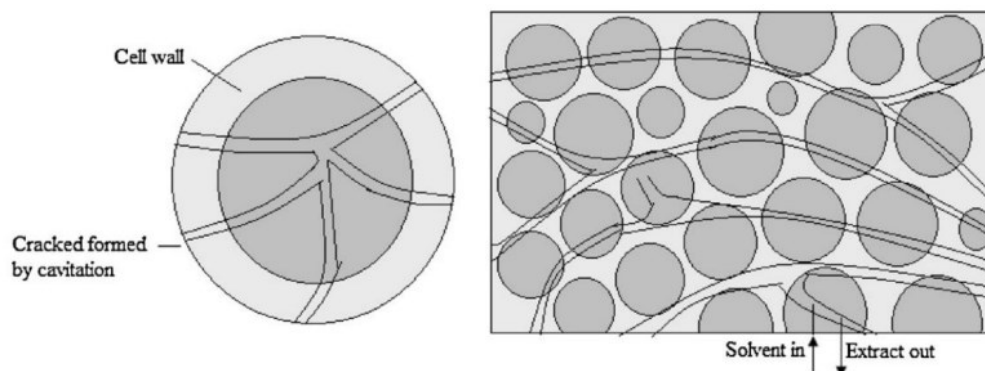


FIGURA 1: Mecanismo de rotura de la pared celular (a) rotura de la pared celular debido a la cavitación. (b) difusión del disolvente en la estructura celular (Shirsath et al., 2012).

Los hongos dermatofitos son un grupo estrechamente relacionado de hongos miceliales que se clasifican en tres agentes etiológicos de la tiña principales: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* (Salazar et al., 2023). Dentro de la variadas de hongos dermatofitos, se encuentra el complejo *Trichophyton mentagrophytes*, es un grupo de hongos filamentosos hialinos septados, perteneciente a la familia *Arthrodermataceae*. En el género *Trichophyton* se identifican: *Arthroderma benhamiae/Trichophyton erinacei*, *Arthroderma vanbreuseghemii/Trichophyton interdigitale* y *Arthroderma simii/Trichophyton mentagrophytes-Trichophyton sp* (Rivas & Mühlfelder, 2015). Pero en el 2020, *Trichophyton indotineae* se propuso como nueva especie (antes *T. mentagrophytes* ITS genotipo VIII) (Astvad et al., 2022). *T. interdigitale*, es una especie antropofílica que se considera un retoño clonal derivado del linaje zoofílico sexual de *T. mentagrophytes*. Esta especie es el principal agente asociado a dermatofitosis humana, causando con mayor frecuencia tiña pedis crónica, comúnmente conocida como pie de atleta, se estima que aproximadamente el 3% de la población mundial padece de esta enfermedad y la prevalencia es mayor en adolescentes y adultos que en niños. La edad máxima de incidencia se sitúa entre los 16 y los 45 años (Leung et al., 2023).

Existen artículos enfocados en el estudio de los efectos de extractos de ajo contra distintos hongos filamentosos, Juárez-Segovia en el 2019, estudio los efectos de extractos crudos de ajo, estos inhibieron el crecimiento en un 13% para *A. parasiticus* y 46.8% para *A. niger*, respectivamente. Inhibiendo la producción de micelio y esporulación de los dos hongos, presentando una CMI de 1:2 (50 µL de extracto crudo) para el primer hongo y 1:32 (3.12 µL de extracto crudo) para el segundo. En 2018, Kutawase, publicó un artículo que tenía por objeto determinar la actividad antifúngica del ajo sobre *Fusarium spp* y *Rhizopus spp*, el extracto se preparó utilizando dos disolventes (acuoso y etanol) por el método de maceración. Se concluyó que el extracto etanólico mostró actividad inhibitoria entre los hongos ensayados. También, Melgar en el 2017 tomo 21 muestras de lesiones cutáneas provocadas por dermatofitos en cuyos (*Cavia porcellus*) con lesiones clínicamente compatibles a la infección micótica grado III y IV, los cuales se agruparon en tres grupos de tratamiento llamados grupo A (administrando *Allium sativum*), grupo B (aplicando *Aloe vera*) y grupo C (Control). Se concluyó que ambos productos naturales fueron seguros debido a que no se encontró efectos secundarios y a su vez, mostraron ser eficaces en el tratamiento de dermatofitos, siendo el *Allium sativum* el que obtuvo mayor tasa de inhibición.

Artículos como el de Araújo Medeiros en el 2022, respaldan el efecto de inhibición que pueden llegar a tener las extracciones de esta planta ante dermatofitos como *Trichopython*, en este estudio se aplica la maceración con distintos solventes a distintas temperaturas como una forma de extracción, las plantas que se ocuparon fueron: *Acalypha indica*, *Lawsonia inermis*, *Allium sativum* y *Citrus limon* para evaluar su actividad antifúngica, uno de los hongos estudiados fue *Trichophyton spp*. El autor de este reporte nos explica que el extracto de *Allium sativum* que se obtuvo mediante maceración dinámica mostró mayor efectividad en el tratamiento de hongos, con una dosis efectiva de 50-100 µg/mL. Otro ejemplo es el del Hoyos (2018), que utiliza extractos frescos de la planta del ajo (*Allium sativum*) y caléndula (*Calendula officinalis*) para inhibir el crecimiento del hongo *Trichopython rubrum* cepa ATCC 28188, el producto con mayor eficiencia tenía una concentración de 40% de extracto de *Allium*, presentando una reducción del 99% para *P. aeruginosa*, 98.8% para *S. aureus* y 99.9% para *T. rubrum*. O el de Silva, 2021, mediante un análisis comparativo demuestra la eficacia del método de extracción asistido por ultrasonidos (60 Hz, temperatura ambiente) usando agua, etanol, acetona, mezclas de los disolventes a dos ciclos con ajo en polvo, dando como resultado una buena recuperación de compuestos fenólicos totales y tiosulfatos.

Hay que hacer énfasis en la importancia de la elección de los solventes a utilizar para la extracción como lo menciona Bar en el 2022, concluyendo en su escrito una mayor eficiencia de extracción de compuestos bioactivos del ajo con el uso de los siguientes disolventes: 50%:50% agua-etanol (v/v)-20,00% y 50%:50% agua-metanol (v/v)-7,33%. Esta selección influye directamente en la eficiencia de obtención de compuestos bioactivos para garantizar la obtención de un producto de interés medico de manera estandarizada para evaluar su capacidad antifúngica contra *T. interdigitale*.

PARTE EXPERIMENTAL

Caracterización fisicoquímica: En el presente estudio se buscó que el tallo de ajo fuera lo más fresco posible (TF), esta fue recibida en diciembre 2023, se obtuvo de pequeños productores de Tepetitla de Lardizábal, Tlax. Entre los paralelos 19° 15' y 19° 19' de latitud norte; los meridianos 98° 20' y 98°25' de longitud oeste; altitud de 2,300 m. Para mantener la muestra libre de contaminación externa o microorganismos ajenos a la planta, se retiró la materia con imperfecciones e indicios de putrefacción, una vez hecha la selección se retiró el exceso del suelo y polvo con un enjuague rápido de agua bidestilada estéril (Brenes-Madríz & Guillén-Watson, 2014). Siguiendo lo reportado por (Ruiz et al., 2020), se hizo un concentrado de hipoclorito de sodio comercial al 1.5%, los tallos previamente elegidos se expusieron a esta solución durante 12-15 minutos para después enjuagarse con agua potable y finalmente quitar el exceso de humedad con toallas de papel. Por otro lado, las muestras se guardaron en bolsas de almacenamiento y se sellaron al vacío, guardándose en un congelador a -20°C.

En la determinación de la composición proximal para alimentos en general se utilizaron las siguientes normas presentadas en la Tabla 1. Se resumen las determinaciones para el análisis proximal, su fundamento y referencia empleada. Cabe destacar que las pequeñas modificaciones presentes, están fundamentadas en los métodos estándar de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 2000).

Tabla 1. Determinaciones para el análisis proximal

Determinación	Fundamento	Referencia
Humedad	Gravimetría	NMX-F-083-1986
Cenizas	Incineración y gravimetría	NMX-F-066-S-1978
Extracto etéreo	Soxhlet	NMX-F-089-S-1978
Fibra	Digestión ácida, alcalina y valoración	NMX-F-090-S-1978
Proteína cruda	Digestión, destilación y titulación	AOAC (2000)

Contenido de Fenoles: Se realizó la cuantificación de polifenoles totales por la técnica de Folin-Ciocalteu, este se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 760-765 nm (Cortez et al., 2018). Se realizó una dilución de 1:100 (900 μ l agua y 100 μ l extracto) para cada uno de los extractos y posterior a esto se tomaron 100 μ l de estos y se depositan en tubos eppendorf junto con 100 μ l del reactivo de Folin, mas 1600 μ l de agua destilada, se dejó reposar por 5 minutos para finalmente agregar 200 μ l de carbonato de calcio (NaCO₃) al 20%, se esperó 90 minutos a temperatura ambiente y manteniéndose en oscuridad. Se leyó la absorbancia a 760 nm. El contenido de fenoles totales se determinó a partir de la curva de ácido gálico que previamente se había preparado y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (extracto) a partir de la Ecuación 1 (García et al., 2015).

$$X = \frac{\text{Abs de la muestra} - b}{\text{pendiente}} = \text{mg equivalentes de AG por g de muestra}$$

Ecuación 1. Ecuación para el contenido de fenoles totales.

Determinación de capacidad antioxidante: La metodología ocupada se estandarizó de acuerdo con las muestras (extractos de tallo de ajo seco) con las que se trabajó, para ello se realizó una dilución de 1:100 (900 μ l agua y 100 μ l extracto) posteriormente se tomaron 50 μ l de estos y se depositan en tubos eppendorf, se colocó 450 μ l de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y se tuvo un blanco de 500 μ l de DPPH. Se agitó por 1 minuto en el vortex y se dejaron reposar por 30 minutos en la oscuridad, para después poder medir la absorbancia a 517 nm. Después de la lectura se calculó capacidad antioxidante de los mismos, expresada como porcentaje de inhibición de DPPH, de

acuerdo con la siguiente ecuación siguiente (Rodríguez et al., 2012). La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco). El porcentaje de captación de radicales DPPH se calculó mediante la Ecuación 2:

$$\% \text{ Captación de radicales DPPH} = \left(A_0 - \frac{A_1}{A_0} \right) * 100$$

Donde:

A0 es la absorbancia de la solución de DPPH

A1 es la absorbancia de la solución de extracto con DPPH

Ecuación 2, Ecuación para la captación de radicales DPPH

Extracción de compuestos bioactivos: La extracción de los compuestos se llevó a cabo por el método de maceración, agregando una solución de: 100 ml al 75% (v/v) de metanol:acetona:agua desionizada (AD) a cada muestra, respectivamente. Las soluciones se pusieron en agitación constante a una temperatura a 50°C, 150 rpm durante 18 horas en una incubadora con agitación orbital posteriormente se separó la fase orgánica con ayuda de una bomba de vacío, un matraz kitasato, un corcho de plástico y un embudo buchner para proceder con la filtración en tela de lino, papel filtro Whatman No 4 para la retención de partículas de 20-25 μm y de No. 40 para partículas con tamaño de 8 μm . En la Tabla 2.

Tabla 2. Tratamientos del TF con diferentes solventes y concentraciones

Abreviatura	Solvente	%	Temperatura	Tiempo	Potencia	Método
TF1	Etanol	80	4°C	15 min	100Khz	Sonicación
TF2	Etanol	60	4°C			
TF3	Etanol	40	4°C			
TF4	Etanol	80	21°C			
TF5	Etanol	60	21°C			
TF6	Etanol	40	21°C			
TF7	Metanol	80	4°C			
TF8	Metanol	60	4°C			
TF9	Metanol	40	4°C			
TF10	Metanol	80	21°C			
TF11	Metanol	60	21°C			
TF12	Metanol	40	21°C			

Antagonismo de extractos de *Allium sativum* por método dilución en el medio: Para ello se preparó agar dextrosa Sabouraud ajustado con un pH de 5.5, discos de papel filtro de aproximadamente 6 mm de diámetro, pinzas, placas Petri P100, una solución del medicamento itraconazol como control positivo a una concentración de 0.05 mg/ml y una solución de esporas del hongo a partir de una dilución la cual contuvo 2.1×10^6 esporas/ml. En condiciones de esterilidad y una vez contando con las cosas necesaria para realizar la metodología de igual forma ya estériles se procedió a agregar 1 ml de solución de esporas por cada 20 ml de agar (las esporas se agregaron poco antes de que el medio gelificara con el fin de que estas no murieran por la temperatura que el medio tenía previo a su esterilización), se vertió en las placas P100 y se dejó gelificar para poder colocar los discos de papel filtro de 6mm de diámetro que previamente fueron sumergidos en cada uno de los extractos de ajo (este procedimiento se realizó por triplicado para cada uno de los extractos), un disco que contenía el control positivo el cual fue el medicamento y un disco que no contenía nada para el control negativo. Después se procedió a cerrar las placas con papel parafilm, etiquetándolas e incubándolas a temperatura ambiente; los resultados se fueron registrando para poder observar la formación de algún halo de inhibición.

Los resultados obtenidos se expresaron como porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, para calcularlo se realizó mediante la siguiente Ecuación 3 (Ochoa et al., 2012):

$$\% \text{ Inhibición de crecimiento micelial} = \frac{CMT - CME}{CMT} \times 100$$

Donde:

CMT: Crecimiento micelial testigo.

CME: Crecimiento micelial del extracto.

Ecuación 3. Porcentaje de inhibición micelial

Antagonismo de extractos de *Allium sativum* por método de difusión en disco Kirby Bouer:

Se utilizó el método de difusión en disco para evaluar la inhibición del crecimiento micelial del hongo contra los extractos porpuestos. En condiciones de esterilidad se agregó 1 ml de solución de esporas 2×10^6 esporas/ml por cada 20 ml de agar tibio para después proceder verter en las placas P100 y dejar enfriar. Una vez que agar gelifico se colocaron los discos de papel filtro que previamente habían sido sumergidos en cada uno de los extractos de ajo, para el control positivo se ocupó una concentración de (0.50 mg/ml) Itraconazol (Stefano, 2022), mientras que para el control negativo se usó un disco con agua destilada. Después se procedió a cerrar las placas con papel parafilm, etiquetándolas e se incubaron a temperatura ambiente ($21^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$); se registró el crecimiento radial del hongo a partir del tercer día de la inoculación.

RESULTADOS

Caracterización fisicoquímica: La primera parte del proyecto de investigación se centró en la determinación de los parámetros fisicoquímicos del tallo de ajo seco y fresco, como diagnóstico inicial. A continuación, en la Tabla 3 se puede observar los resultados correspondientes a la caracterización fisicoquímica de los dos tipos de muestra, los parámetros analizados incluyeron cenizas, humedad, extracto etéreo, fibra, proteína cruda y carbohidratos, siguiendo los métodos de análisis establecidos por las normas mexicanas y AOAC. Los resultados fueron comparados con los resultados reportados por (Kallel & Ellouz, 2017). EL porcentaje de humedad en base seca de ajo, Gong B, 2013, reporta un resultado del 4.89%, mientras que Kallel & Ellouz, 2017, reporta un 5.81%, cifras muy parecidas a los resultados que encontraron en (TF) alcanzó 7.47%. Las pequeñas diferencias que se tuvieron en esta determinación pueden ser explicadas por las diferentes condiciones a las que fueron sometidas las muestras, el lote experimental de TS llevaba más de un mes y medio siendo secado al sol. Por otra parte, el contenido de cenizas fue de y 13.26 % en TF, el cual coincide con lo reportado por las investigaciones anteriores, Lee, 2017, obtuvo un 16% en sus resultados, Kallel & Ellouz, 2017, reportan un 10% y, por último, Jędruszczuk et al. (2018) determinó un 3.40% de cenizas en los tallos.

Parámetros Contenido (g/100 g TA)	Resultados Reportados (Kallel & Ellouz, 2017)	Tallo Ajo Local Fresco (TF)
Humedad	5.81	7.47
Ceniza	10.3	13 .26
Fibra	24.1-25.7	26.37
Proteína	4.38	3.02
Extracto etéreo	3.32	4.36
Carbohidratos	21.12 - 79.25	26.08

Datos expresados en base seca

Contenido de Fenoles: Tabla 3. Resultados que corresponden a los análisis de la caracterización de TF comparado con lo reportado por (Kallel & Ellouz Chaabouni, 2017). Los resultados de fenoles totales obtenidos para los extractos de tallo fresco se encuentran en la Tabla 4 y (figura 2), se puede observar que el extracto con mayor cantidad de fenoles fue el de metanol 21°C -60% con 36.41 mg

GAE/g extracto, nombrado TF11 (señalado con la letra A) y el extracto que menos TPC tuvo fue el de metanol 21°C-80% con un total de 11.52 mg GAE/g extracto, marcado como TF 10 (señalado con la letra J).

Tabla 3. Agrupación de datos sobre el contenido fenólico total (TPC) presente en los extractos TF por el método de la diferencia menos significativa (LSD) de Fisher (los datos corresponden a las medias $\pm$ desviación estándar de 3 réplicas).

Extracto	Resultado (mgGAE/gr de extracto)	Extracto	Resultado (mgGAE/gr de extracto)
TF1	21.79 $\pm$ 0.581 F	TF7	34.59 $\pm$ 1.395 B
TF2	27.29 $\pm$ 4.42 E	TF8	28.46 $\pm$ 0.814 E
TF3	15.75 $\pm$ 3.26 I	TF9	27.50 $\pm$ 1.047 E
TF4	20.58 $\pm$ 2.09 D	TF10	11.52 $\pm$ 2.21 J
TF5	29.36 $\pm$ 0.581 D	TF11	36.41 $\pm$ 4.19 A
TF6	31.37 $\pm$ 4.30 C	TF12	18.44 $\pm$ 4.19 H

Los superíndices representan las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) correspondientes al método de comparación de parejas de Fisher (las medias que no comparten letra son significativamente diferentes).

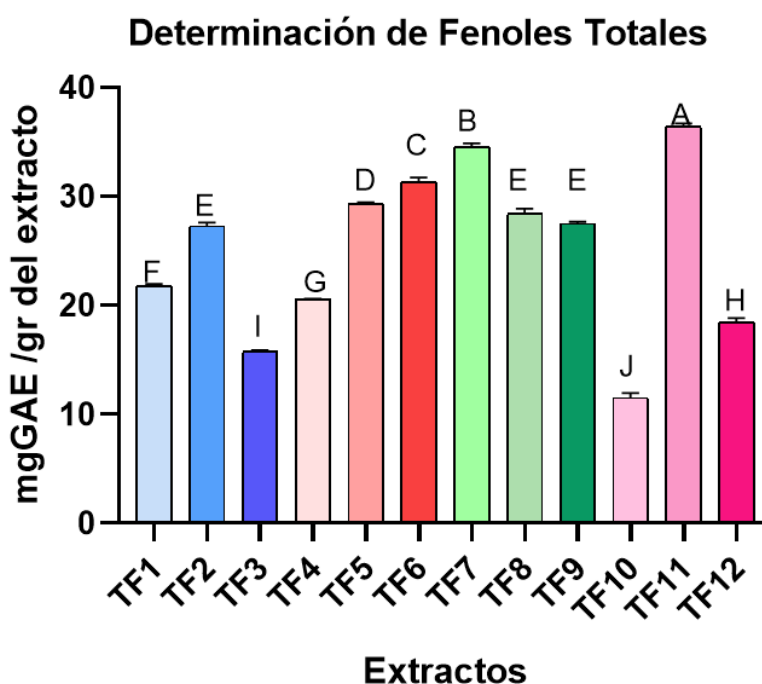


FIGURA 2. Resultados para la determinación del TPC de TF expresados en mg GAE/g de extracto. Las letras en la parte superior de cada barra representan las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) correspondientes al método de comparación de parejas de Fisher (las medias que no comparten letra son significativamente diferentes).

Determinación de capacidad antioxidante: Tres extractos presentaron mayor capacidad antioxidante, estos extractos tienen la letra A en mayúsculas indicando que no existe diferencia significativa entre ellas. Los extractos fueron TF5, (Etanol 60% con 21°C en la extracción) con 52.45 $\pm$ 0.448 %AA, TF10 (Metanol 80% a 21°C) con 53.25 $\pm$ 0.39 %AA y TF7 (Metanol 80% con 4°C) con 53.25 $\pm$ 0.747 %AA. La actividad antioxidante se presenta en función de la concentración del

extracto, dado que la actividad antioxidante depende de la polaridad de los solventes en relación con los compuestos encontrados en los extractos; de igual manera esta actividad incrementa conforme aumenta la concentración del extracto (mg/ml), pero la actividad máxima posible dependerá de los extractos, es decir, de la naturaleza de los compuestos bioactivos presentes

Tabla 4. Agrupación de datos sobre el %AA presente en los extractos por el método de la diferencia menos significativa (LSD) de Fisher (los datos corresponden a las medias $\pm$ desviación estándar de 3 réplicas).

Extracto	%AA	Extracto	%AA
TF1	46.66 $\pm$ 0.822 D	TF7	53.25 $\pm$ 0.747 A
TF2	49.18 $\pm$ 0.1495C	TF8	51.33 $\pm$ 0.897 ABC
TF3	21.22 $\pm$ 0.1495 F	TF9	49.60 $\pm$ 2.54 BC
TF4	38.71 $\pm$ 0.972 E	TF10	53.25 $\pm$ 0.39 A
TF5	52.45 $\pm$ 0.448 A	TF11	51.33 $\pm$ 0.448 ABC
TF6	51.94 $\pm$ 5.16 A B	TF12	49.60 $\pm$ 2.09 BC

Los superíndices representan las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) correspondientes al método de comparación de parejas de Fisher (las medias que no comparten letra son significativamente diferentes).

Determinación de Capacidad Antioxidante

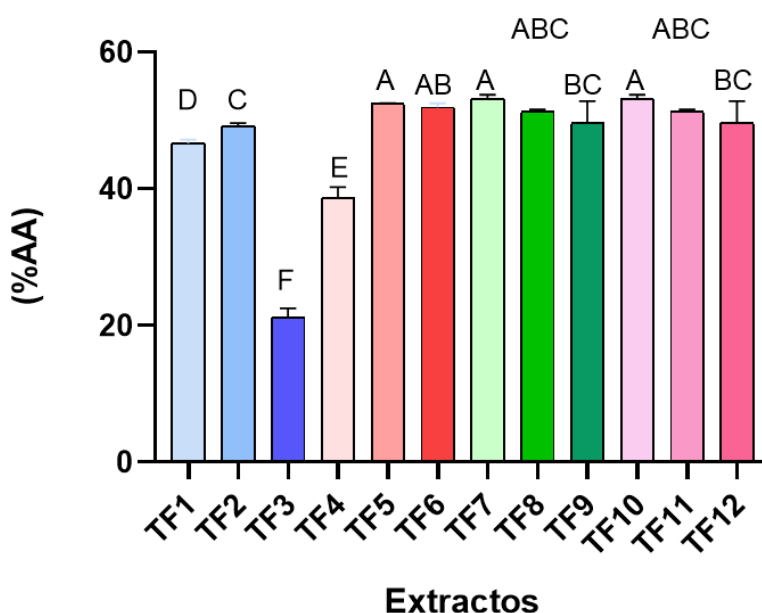


FIGURA 3. Los datos de corresponden a las medias $\pm$ desviación estándar. Las letras en la parte superior de cada gráfica representan las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) correspondientes al método de comparación de parejas de Fisher.

Antagonismo de extractos de *Allium sativum* por método dilución en el medio:

Todos los extractos de tallo de ajo fresco presentaron halos de inhibición a diferencia de TS, los que obtuvieron mejores resultados están los marcados con la letra A, son los de metanol 40%-4°C y etanol 40%-21°C, los extractos que no mostraron halo de inhibición fueron de los de etanol 80%-21°C y etanol 60%-4°C. En su mayoría se presentó un halo poco visible por un periodo de 2 días

demostrando inhibición frente a el crecimiento de *T. interdigitale*. Como se muestra en la figura 4, 5 y tabla 5

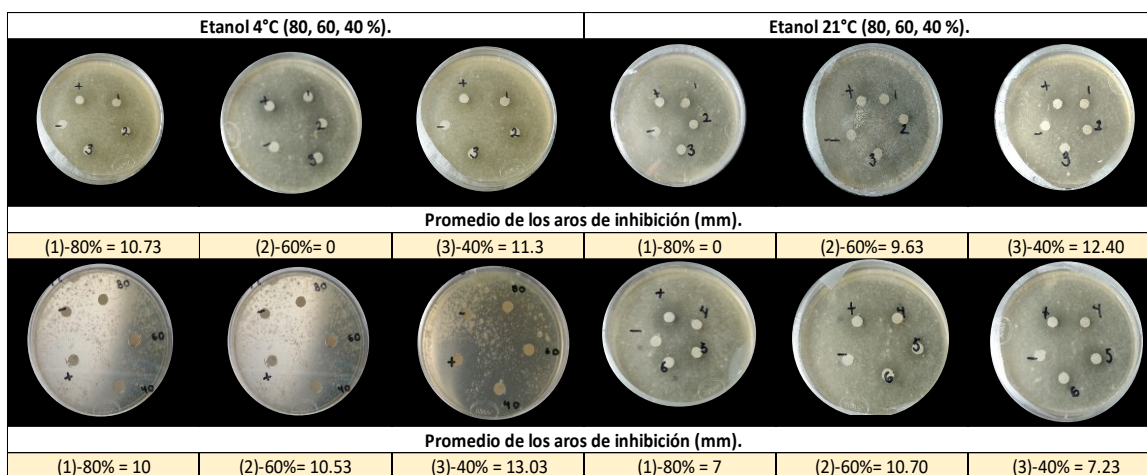


FIGURA 4 Promedio de los aros de inhibición en TF

Tabla 5. Medida de los halos en milímetros obtenidos

Extracto	Resultado (%inhibición)	Extracto	Resultado (%inhibición)
TF1	53.11±15.05 BC	TF7	44.86±8.81 BCD
TF2	0.00 ±8.82 E	TF8	34.02±5.75 D
TF3	57.60±3.52 B	TF9	37.94 ±1.048 CD
TF4	0.00 ±9.36 E	TF10	12.0694±1.96 E
TF5	44.23±7.64 BCD	TF11	56.72±2.16 B
TF6	77.91±11.84 A	TF12	14.88±1.67E

Los superíndices representan las diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) correspondientes al método de comparación de parejas de Fisher (las medias que no comparten letra son significativamente diferentes).

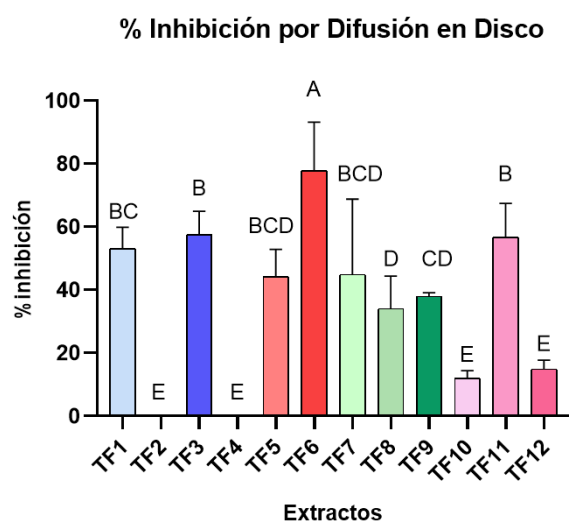


FIGURA 5. Inhibición por Difusión en Agar

Antagonismo de extractos de *Allium sativum* por método de difusión en disco Kirby Bouer:

Los únicos extractos que retardaron el crecimiento micelial de *T. interdigitale* fueron los extractos de metanol TF8 (4°C 60%) y TF9 (4°C 40%) con porcentajes de inhibición de 43.32% y 17.59% respectivamente, que en comparación con el crecimiento del control positivo donde el agar no contenía nada, los demás extractos mostraron tener un crecimiento mayor al del control. La diferencia con la técnica de difusión por discos es que estos extractos permanecieron por mayor tiempo resguardados en refrigeración (4°C) antes de que fueran evaluados en esta técnica, así que los resultados que se muestran hacen referencia a que después de un periodo más extenso solo dos extractos siguieron teniendo actividad antifúngica para este hongo. Presentados en la Tabla 5 y la imagen 6, 7.

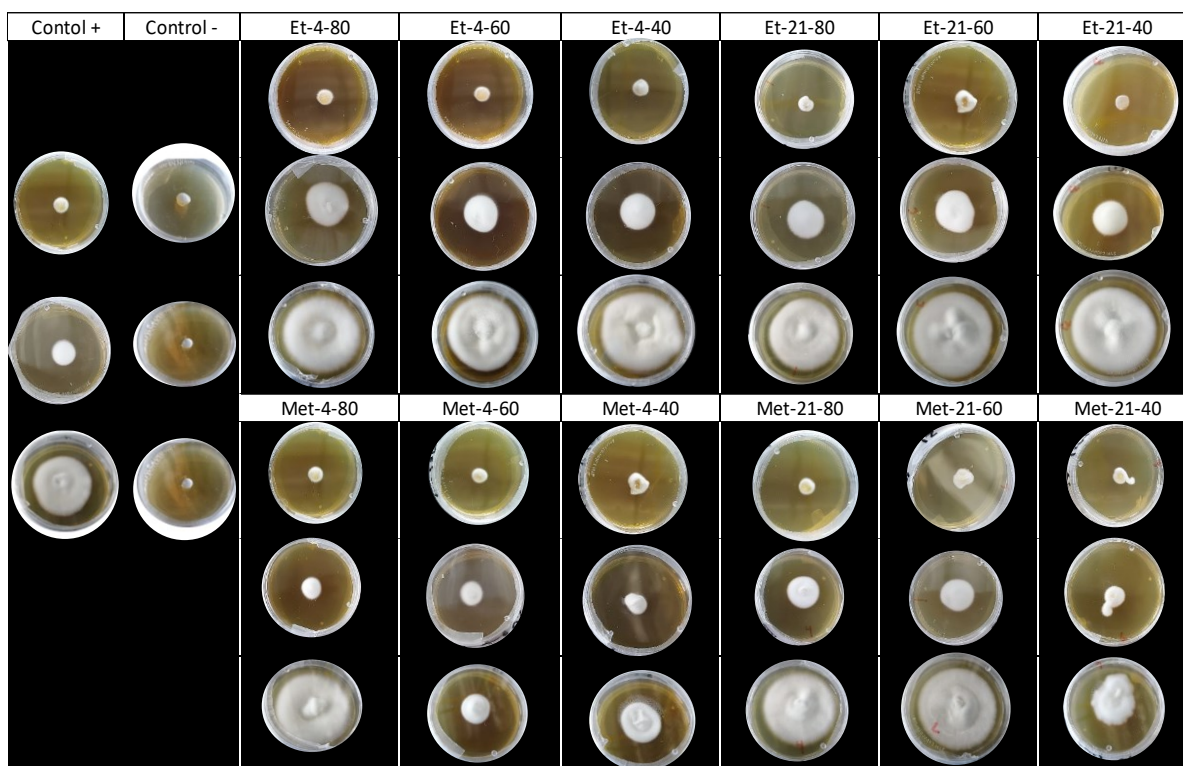


Fig 6. Resultados con porcentaje de inhibición, las fotos muestran el crecimiento de micelial de *T. interdigitale* de arriba hacia abajo, siendo la primera foto el día uno y la tercera siendo el día 15. Control + (agar solo), Control – (Itraconazol).

Tabla 6. Porcentaje de inhibición de extractos TF

Extracto	Resultado (%inhibición) ± DE	Extracto	Resultado (%inhibición) ± DE
TF1	0.003.52 D	TF7	0.00±1.382 D
TF2	0.00±1.255 D	TF8	43.32±3.18 A
TF3	0.00±3.68 D	TF9	17.59 ±17.59 B
TF4	0.00±3.83 D	TF10	0.00±11.95 D
TF5	0.004.56 D	TF11	0.00±21.7 D
TF6	0.00±5.31 D	TF12	0.00±22.0 C

Los superíndices representan las diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) correspondientes al método de comparación de parejas de Fisher (las medias que no comparten letra son significativamente diferentes).

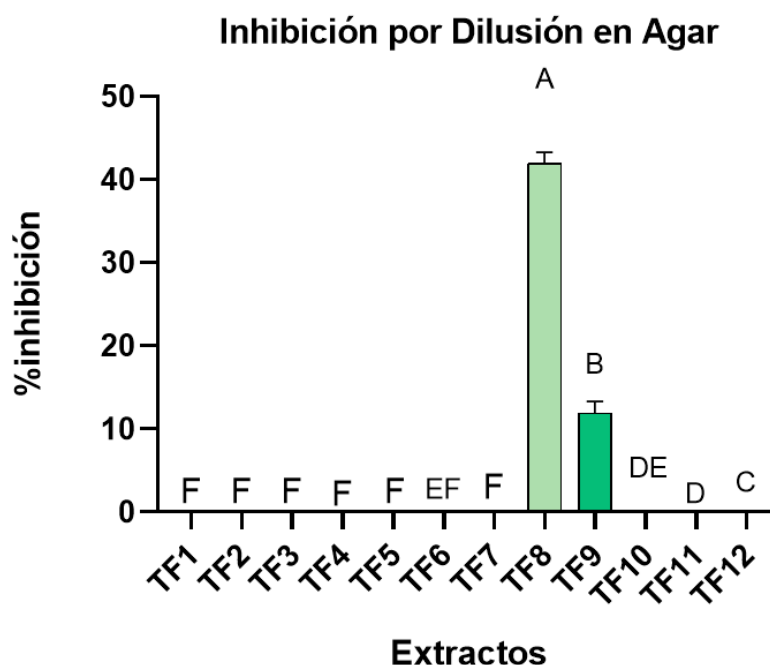


FIGURA 7. Comparación de los diámetros de los halos de inhibición de los diferentes grupos de los extractos con acetona y metanol de *Allium sativum* con el grupo estándar (itraconazol) frente a *Trichophyton interdigitale*.

CONCLUSIONES

Mediante esquemas experimentales in vitro, se demostró la factibilidad del uso del tallo de ajo como materia prima rica en compuestos bioactivos con actividad antifúngica y antioxidante ante *Trichophyton interdigitale* como propuesta de aprovechamiento del residuo agroindustrial. Se demostró que las condiciones utilizadas para la extracción de los compuestos bioactivos del tallo de ajo fueron convenientes, por tanto, los extractos de tallo de ajo en la metodología de difusión en disco para la evaluación del porcentaje de inhibición respecto a *T. interdigitale* presentaron en su mayoría resultados favorables, sin embargo, se buscaba cuál de los doce extractos después de su almacenamiento seguía teniendo una actividad antifúngica para dicho hongo. Por consiguiente, se aplicó la técnica de dilución de extracto en el agar obteniendo como mejor extracto a metanol 4°C-60% con un porcentaje de inhibición por un periodo de evaluación de 15 días del 43.32%, un contenido de fenoles de 160.465 mg GAE/g extracto, con una actividad antioxidante de 82.063% y por último una concentración mínima inhibitoria de 6.5114 mg/ml. Esto sugiere que los extractos de *A. sativum* pueden usarse para combatir el problema de la resistencia a los medicamentos. Sin embargo, es necesario realizar pruebas de toxicidad y también se sugiere probar las actividades sinérgicas del tallo de ajo en combinación con otros extractos de plantas o medicamentos antimicóticos para obtener quizá resultados más aprovechables.

En definitiva, este trabajo evidencia que la utilización del tallo de ajo fresco para la obtención de extractos con propiedades bioactivas permite inhibir el crecimiento de hongos dermatofitos como *T. interdigitale* por lo que esto representa una alternativa viable para la revalorización de este residuo. Sin embargo, se deben realizar más estudios para determinar los compuestos bioactivos presentes en el extracto responsable de la eliminación de radicales y las actividades antifúngicas exhibidas por el mismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ammarellou, A., Yousefi, A. R., Heydari, M., Uberti, D., & Mastinu, A. (2022). Biochemical and Botanical Aspects of *Allium sativum* L. Sowing. *BioTech*, 11(2), 16. <https://doi.org/10.3390/biotech11020016>
2. Arroy, J. D. V., Ruiz-Espinosa, H., Luna-Guevara, J. J., Luna-Guevara, M. L., Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., & Ochoa-Velasco, C. E. (2017). Effect of solvents and extraction methods on total anthocyanins, phenolic compounds and antioxidant capacity of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas peel. *Czech Journal of Food Sciences*, 35(5), 456-465. <https://doi.org/10.17221/316/2016-CJFS>
3. Astvad, K. M. T., Hare, R. K., Jørgensen, K. M., Saunte, D. M. L., Thomsen, P. K., & Arendrup, M. C. (2022). Increasing Terbinafine Resistance in Danish Trichophyton Isolates 2019–2020. *Journal of Fungi*, 8(2), 150. <https://doi.org/10.3390/jof8020150>
4. Bhandari, P. (2012). Garlic (*Allium sativum* L.): A review of potential therapeutic applications. *International Journal of Green Pharmacy*, 6(2), 118. <https://doi.org/10.4103/0973-8258.102826>
5. Brenes-Madríz, J., & Guillén-Watson, A. (2014). Establecimiento de un protocolo in vitro para el cultivo del ajo (*Allium sativum*) en Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 27(4), 49. <https://doi.org/10.18845/tm.v27i4.2085>
6. Fidelis, M., Santos, J. S., Escher, G. B., Vieira do Carmo, M., Azevedo, L., Cristina da Silva, M., Putnik, P., & Granato, D. (2018). In vitro antioxidant and antihypertensive compounds from camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh, Myrtaceae) seed coat: A multivariate structure-activity study. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 479-490. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.043>
7. Ghani, M. I., Ali, A., Atif, M. J., Ali, M., Amin, B., & Cheng, Z. (2022). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Dry Raw Garlic Stalk Amendment Alleviate Continuous Monocropping Growth and Photosynthetic Declines in Eggplant by Bolstering Its Antioxidant System and Accumulation of Osmolytes and Secondary Metabolites. *Frontiers in Plant Science*, 13, 849521. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.849521>
8. Han, X., Cheng, Z., Meng, H., Yang, X., & Ahmad, I. (s. f.). ALLELOPATHIC EFFECT OF DECOMPOSED GARLIC (*ALLIUM SATIVUM* L.) STALK ON LETTUCE (*L. SATIVA* VAR. CRISPA L.).
9. Hernández-Varela, J. D., Chanona-Pérez, J. J., Calderón Benavides, H. A., Cervantes Sodi, F., & Vicente-Flores, M. (2021). Effect of ball milling on cellulose nanoparticles structure obtained from garlic and agave waste. *Carbohydrate Polymers*, 255, 117347. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117347>
10. Kallel, F., & Ellouz Chaabouni, S. (2017). Perspective of garlic processing wastes as low-cost substrates for production of high-added value products: A review. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 36(6), 1765-1777. <https://doi.org/10.1002/ep.12649>
11. Parejo-Moruno, F. M., Rangel-Preciado, J. F., & Cruz-Hidalgo, E. (2020). La inserción de China en el mercado internacional del ajo. Un análisis descriptivo, 1960-2014. *Economía Agraria y Recursos Naturales*, 20(1), 77. <https://doi.org/10.7201/earn.2020.01.04>
12. Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD. *REVISTA BOLIVIANA DE QUÍMICA*, 31.
13. Prieto-Sandoval, V., Jaca, C., & Ormazabal, M. (2017). *Economía Circular*.
14. Reddy, J. P., & Rhim, J.-W. (2018). Extraction and Characterization of Cellulose Microfibers from Agricultural Wastes of Onion and Garlic. *Journal of Natural Fibers*, 15(4), 465-473. <https://doi.org/10.1080/15440478.2014.945227>
15. Rivas, L., & Mühlhauser, M. (2015). Complejo Trichophyton mentagrophytes. *Revista Chilena de Infectología*, 32(3), 319-320. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000400009>
16. Ruiz, J. C., Cuba, M. A., Ruiz, S. C., Ruíz, J. C., & Rebaza, L. C. (2020). Establecimiento de un protocolo de desinfección y micropropagación in vitro de “caoba” *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae).
17. Salazar, E. G., Herrera, E. M., Altamirano, G. A., & Arenas, R. (2023). Trichophyton indotineae: Un nuevo reto en dermatología.

18. Shang, A., Cao, S.-Y., Xu, X.-Y., Gan, R.-Y., Tang, G.-Y., Corke, H., Mavumengwana, V., & Li, H.-B. (2019). Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 246. <https://doi.org/10.3390/foods8070246>
19. Usmani, Z., Sharma, M., Awasthi, A. K., Sharma, G. D., Cysneiros, D., Nayak, S. C., Thakur, V. K., Naidu, R., Pandey, A., & Gupta, V. K. (2021). Minimizing hazardous impact of food waste in a circular economy – Advances in resource recovery through green strategies. *Journal of Hazardous Materials*, 416, 126154. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126154>
20. Velarde-Mendivil, A., Camarena-Gómez, D., & Salgado-Beltrán, L. (2021). Preferences towards the brand and origin of garlic (*Allium sativum* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 38(3), 733-750. [https://doi.org/10.47280//RevFacAgron\(LUZ\).v38.n3.15](https://doi.org/10.47280//RevFacAgron(LUZ).v38.n3.15)

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO SEMILLAS FORESTALES CON EL USO DE OG Y OGN

Omar Augusto Sánchez Ortiz, Verónica Janette Cedeño Garcidueñas, Mario Mendoza Anguiano, Claudia Palomares Rodríguez, Guillermo Andrade Espinosa y Griceida Villegas López

Tecnológico Nacional de México/ IT Valle de Morelia.
omar.so@vmorelia.tecnm.mx

RESUMEN

La aplicación de nanomateriales en el sector agroalimentario puede implicar el incremento de su eficiencia y calidad mediante la aplicación de nanoestimulantes, así como también para ayudar a combatir patógenos en el cultivo [1]. Algunos estudios denotan la trascendencia de los nanomateriales de carbono como el grafeno en su aplicación como agente promotor en la disminución del tiempo de germinación, crecimiento de la plántula y planta, de diferentes especies, propiciando la absorción de agua, esto fue estudiado en semilla de tomate [2]. Por otro lado, el control biológico de patógenos en plantas suele utilizarse bacterias y hongos como *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Trichoderma*, en el caso de este último puede actuar como antibiosis o competencia patógena. Así mismo, los nanomateriales como el óxido de grafeno que presenta propiedades antimicrobianas y antifúngicas son candidatos para su uso en la inhibición de patógenos. Por lo cual, se considera que la interacción entre el *T. harzianum* y las propiedades del óxido de grafeno propiciarán una alternativa en el control de este tipo de patógeno. El *Pinus pseudostrobus* Lindl., es una de las especies más importantes y comunes en el centro-sur de México debido a las propiedades de la madera que produce. Delgado-Valerio (1994), menciona en su investigación que los valores de germinación son variados, los cuales van de 74% a 95% donde se destaca que la temperatura óptima para la germinación es de 25 °C, lo que da como resultado un 50% de germinación en 8 días y un 90% de germinación en 12 días. Por otra parte, se ha descubierto que los hongos micorrízicos tienen una gran influencia en el crecimiento de plantas cultivadas, siendo el caso de *Trichoderma harzianum*. En este trabajo, se evalúa la germinación y el crecimiento de semillas de *Pinus pseudostrobus* en presencia de óxido de grafeno (OG) y óxido de grafeno funcionalizado con nitrógeno (OG-N), considerando parámetros como la estabilización de pH neutro, sin sustrato ni adición de nutrientes. Dentro de los resultados obtenidos se observó que el OG y el OG-N son benéficos para el crecimiento de la planta, debido a que estos ayudan aportando carbono y nitrógeno a la semilla durante la germinación, con concentraciones de 0.001g de OG y OG-N con resultados de mayor desempeño en la germinación y crecimiento de la planta.

INTRODUCCIÓN

Actualmente México cuenta con 208,746 ha/año deforestadas, ocasionando un rápido avance del cambio climático, la reforestación es una alternativa para este suceso, sin embargo, no es una tarea fácil debido a que la producción de planta involucra diversas actividades de suma importancia, tal como la germinación. El proceso de germinación es una de las actividades de mayor relevancia en la reforestación, debido a que involucra el estado de latencia o dormancia de las semillas, refiriéndose esto a su viabilidad a lo largo del tiempo, lo cual puede generar pérdidas en su producción, no obstante, la semilla puede ser estimulada a través de la escarificación mecánica, tratamiento con agua caliente, escarificación ácida, lavado en agua corriente, secado previo, preenfriamiento, estratificación e imbibición con nitrato de potasio [3]. Seguido del proceso de germinación se tienen dos fases el crecimiento rápido y desarrollo de la planta, y por último el endurecimiento, denominado como lignificación, que dura de 2 a 3 meses aproximadamente según la especie, este proceso ayuda a la resistencia de las plantas contra plagas y el estrés propiciado durante el trasplante en campo [4].

Debido a la trascendencia de la fase de germinación, dentro del sector agroalimentario se estudian diferentes métodos para estimular la semilla durante esta etapa, el óxido de grafeno es un gran candidato para implementar como estimulante, debido a que potencializa el crecimiento de la raíz y la planta [5]. El óxido de grafeno es un alótropo del carbono es un material bidimensional, con

propiedades eléctricas, mecánicas, bactericidas y antifúngicas, es aplicado en diferentes campos de estudio como la medicina, tecnología, automotriz, entre otras [6].

Aunado al problema de germinación, las enfermedades en plantas forestales suelen acabar con una producción entera, sin embargo, el uso de microorganismos benéficos como el *T. harzianum* coadyuva a controlar estas enfermedades, debido a que actúa como un agente endofítico que promueve el crecimiento de las plantas por medio de auxinas o ácidos orgánicos. Además, se ha comprobado que la función principal de vivir alrededor de la planta, es llevar a cabo el proceso de antibiosis con agentes patógenos [7].

TEORÍA

Algunos estudios emplean nanopartículas de carbono, lo que contribuye a que algunas plantas o cultivos se puedan desarrollar más rápido o incrementen su producción. Por ejemplo, en el trabajo de Méndez R. (2018), al emplear óxido de grafeno (OG) en dos variedades de frijol, los resultados indican que, para el frijol bayo, la germinación de semillas incrementó mientras que para la variedad de flor de mayo decreció [8]. En otro estudio también fue utilizado el OG, pero en semilla de tomate (*Solanum lycopersicum*), en donde se comprueba que el uso de OG en concentraciones mínimas mejora el desarrollo y crecimiento de las raíces en un 31% [9]. Los nanomateriales de carbono no solo proporcionar propiedades estructurales, si no también propiedades fisicoquímicas, como la conducción, la resistencia, propiedades higroscópicas e hidrofílicas, además funciona como aditivo antimicrobiano o antifúngico.

El *P. pseudostrobus* L. es una especie de origen mexicano que cuenta con un porcentaje del 80% de germinación, entre las características de esta semilla se encuentra que son ortodoxas con medida de 1 y 4 mm. Su tiempo de germinación es de 12 a 16 días. Es muy propenso a enfermarse a causa de patógenos, entre los que destacan el *Fusarium*, *Phytophthora* y *Rhizoctonia*, que al conjunto de ellos se le denomina Damping off, esta enfermedad ataca previa o posteriormente a la germinación debido al exceso de humedad en el suelo [10]. El OG al ser antifúngico contribuye al control del desarrollo del Damping off.

PARTE EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental propuesto se basa en dos etapas, la primera etapa consiste en determinar y analizar los efectos del uso de OG y OG-N en la germinación de semilla de *Pino pseudostrobus*. La segunda etapa consiste en seleccionar la dosis de OG y OG-N que presente los mejores resultados de germinación en la primera etapa, repitiendo el experimento utilizando *T. harzianum* para observar el comportamiento de germinación de la semilla y crecimiento de planta hasta su lignificación del tallo.

En la primera etapa el proceso inicia con la selección y desinfección de la semilla usando cloro como solución desinfectante, una vez terminada la desinfección la semilla se hidrata durante 24 hrs en 100 ml de agua destilada con OG y OG-N a una concentración de 0.001g y 0.01g cada una. El tamaño de muestra que se considera es de 70 semillas de *Pino pseudostrobus* dividida en 5 partes considerando un blanco, una muestra de OG a 0.001g, una muestra de OG a 0.01g, una muestra de OG-N a 0.001g y una muestra de OG-N a 0.01g.

Una vez concluido el tiempo de hidratación las semillas se colocan en diez recipientes rotulados que constan de una base de algodón y gasas, posteriormente se agrega la solución de concentración correspondiente con la finalidad de humedecer el algodón e impregnar la semilla, tapando los recipientes con papel film.

Durante las siguientes 4 semanas se aplican riegos cada tercer día con agua destilada y solo una vez por semana se aplica un riego con solución de OG o OG-N según corresponda manteniendo una temperatura ambiente y luz natural sin exposición directa al sol.

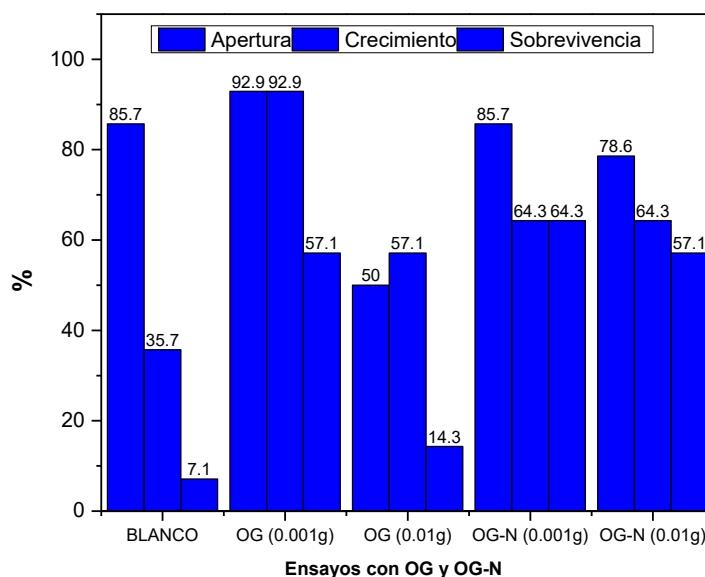
La segunda etapa se inicia con la selección, desinfección e hidratación de las semillas siguiendo el procedimiento de la primera etapa considerando únicamente la concentración que exhibe mejores resultados en desarrollo de germinación usando OG y OG-N, posteriormente son inmunizadas en 20 ml de solución de *T. Harzianum* durante 30 min y secadas al sol (por cada gramo de Trichoderma, 500 ml de agua durante 3 días). El tamaño de muestra es de 240 semillas de *Pino pseudostrobus* divide en 3 partes considerando un blanco, una muestra de OG y una muestra de OG-N con la concentración resultante seleccionada después de la primera etapa, bajo las condiciones de germinado y crecimientos similares a las de la etapa uno, variando el riego con Trichoderma (10 ml) una vez por semana y posteriormente a los 3 días otro riego con solución de OG y OG-N respectivamente (10 ml de solución a 0.001g).

RESULTADOS

El desarrollo de la primera etapa tuvo una duración de 4 semanas donde se analizaron los efectos de uso de OG y OG-N en la germinación de semilla de *Pino pseudostrobus* apertura, crecimiento y sobrevivencia de planta. El tamaño total de muestra (70 semillas) considerado fue dividido en cinco porciones iguales (14 semillas c/u). El blanco muestra que un 85.71% de las semillas abrieron durante la primer y segunda semana, el 35.71% creció durante la segunda y tercera semana y a la cuarta semana sobrevivió el 7.14%. En cuanto a la muestra de semillas que fueron impregnadas con 0.001g de OG el 92.86% de las semillas abrieron durante la primer y segunda semana, crecieron durante la segunda y tercera semana el 92.86% de las semillas y a la cuarta semana sobrevivió el 57.14%. Por otro lado, se observó que las semillas que estuvieron en contacto con una concentración de 0.01g de OG el 50% de las semillas abrieron durante la primer y segunda semana, crecieron durante la segunda y tercera semana el 57.14% de las semillas y sobrevivió el 14.29% a la cuarta semana. En el caso del uso de 0.001g de OG-N se observó que 85.71% de las semillas abrieron durante la primer y segunda semana, el 64.29% creció durante la segunda y tercera semana y a la cuarta semana sobrevivió el 64.29%. Con la adición del 0.01g de OG-N la apertura de la semilla fue del 78.57% durante la primer y segunda semana, la planta creció durante la segunda y tercera semana en un 64.29% y en cuanto a la tasa de sobrevivencia esta se dio en un 57.14% en la cuarta semana, tal como se puede observar en la Gráfica 1, en cuanto a los resultados de germinación de esta primera etapa se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de germinación primer etapa.

Muestra	Total de muestra	Tipo de Observación	Semana			
			1	2	3	4
Blanco	14	Abrieron	2	10		
		Crecieron		2	3	
		Vivieron				1
OG (0.001g)	14	Abrieron	5	8		
		Crecieron		5	8	
		Vivieron				8
OG (0.01g)	14	Abrieron	1	6		
		Crecieron		1	7	
		Vivieron				2
OG-N (0.001g)	14	Abrieron	6	6		
		Crecieron		6	3	
		Vivieron			6	9
OG-N (0.01g)	14	Abrieron	1	10		
		Crecieron		1	8	
		Vivieron				8
Total	70					

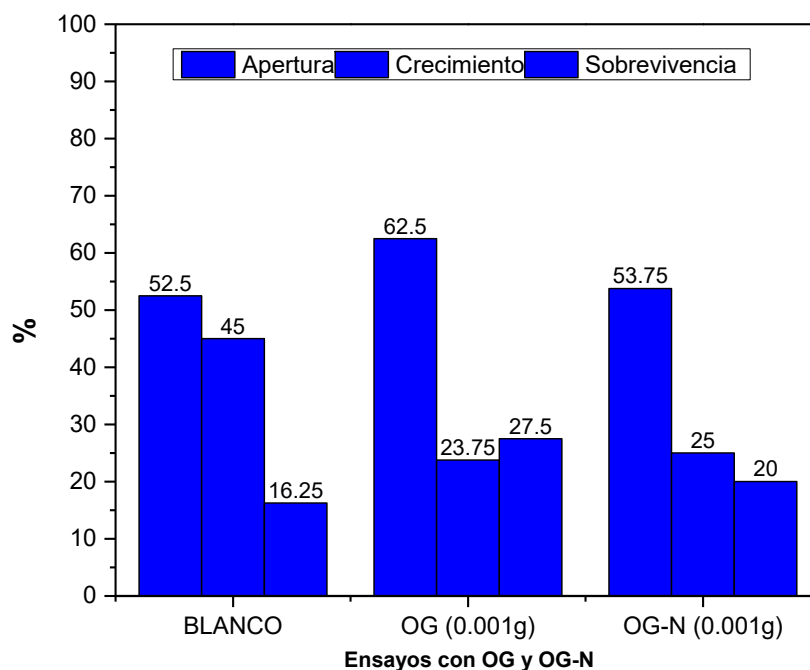


Gráfica 1. Porcentaje de germinación de la Primera Etapa.

La segunda etapa tuvo una duración de catorce días, donde se observaron los efectos que tiene el OG y OG-N en proporción de 0.001g en presencia de *T. Harzianum*. En la Tabla 2 se pueden observar los resultados referentes a los experimentos realizados, en la cual se indica los resultados de la germinación de la segunda etapa de forma detallada. En la Gráfica 2, se muestran los porcentajes de las observaciones realizadas, indicando que para el Blanco se abrieron el 52.5% de las semillas en los primeros siete días, solamente crecieron el 45% en el día nueve y vivieron el 16.25% en el día 14. Para el OG (0.001g) entre los días 7 y 9 abrieron el 62.5%, vivieron el 27.5% para el día 14. Finalmente, para el OG-N (0.001g), en el día 7 abrieron el 52.75%, crecieron el 25% para el día 11 y en el día 14 solamente vivieron el 20%.

Tabla 2. Resultados de germinación segunda etapa.

Muestra	Total de muestra	Tipo de Observación	Día			
			7	9	11	14
Blanco	80	Abrieron	42			
		Crecieron		36		
		Vivieron			29	13
		Altura máx (cm)		1	6	6.5
OG (0.001g)	80	Abrieron	45	5		
		Crecieron		18	1	
		Vivieron			21	22
		Altura máx (cm)		2	6	7
OG-N (0.001g)	80	Abrieron	41	2		
		Crecieron		20		
		Vivieron			20	16
		Altura máx (cm)		2	6	8
Total	240					



Gráfica 2. Porcentaje de germinación de la Segunda Etapa.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el primer ensayo para la germinación de semilla de *P. Pseudostrobilus* muestran que el empleo de OG y OG-N tienen influencia en la germinación, crecimiento y sobrevivencia de la planta, de acuerdo con los resultados se observa aceleración en la germinación que inicia a la primera semana, así como también la tasa de crecimiento se incrementa cuando se usa una concentración de 0.001g de OG, sin embargo la tasa de sobrevivencia es mayor al usar una concentración de 0.001g de OG-N, mientras que para el blanco y a las otras concentraciones de OG y OG-N es más bajo, debido posiblemente al aporte de carbono y/o nitrógeno a la semilla.

Por otro lado, derivado a las características que ha mostrado el OG como agente antifúngico se observa que en ciertas dosis este tiene un efecto positivo en la semilla y la planta ayudando a controlar la propagación de agentes dañinos como el fusarium y el Damping Off.

El empleo de OG y OG-N en la germinación de semillas de *P. pseudostrobilus* y desarrollo de la planta tienen efectos favorables por lo que se puede considerar un material apto para uso con semillas forestales.

Finalmente, el *T. Harzianum* puede desarrollarse en presencia del OG y OG-N sin inhibir su crecimiento significativamente, así mismo el OG y OG-N se puede considerar como un aliado del *T. harzianum* para contrarrestar los efectos dañinos de agentes patógenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. R. H. Lira-Saldivar, B. M. Argüello, G. D. los S. Villarreal, and I. V. Reyes, "Potencial de la nanotecnología en la agricultura," *Acta Univ.*, Vol. 28, 2, 2018, pp. 9–24.
2. M. Zhang, B. Gao, J. Chen, and Y. Li, "Effects of graphene on seed germination and seedling growth," *J. Nanoparticle Res.*, Vol. 17, 2, 2015.
3. J. Doria, "Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento," *cultrop* Vol.31,1, 2010.
4. R. Kasten, D. Jacobs and K. M. Wilkinson, "Fases de cultivo: Establecimiento y crecimiento rápido," *RNGR*, 2014.
5. R. H. Lira-Saldivar, B. M. Argüello, G. D. los S. Villarreal, and I. V. Reyes, "Potencial de la nanotecnología en la agricultura," *Acta Univ.*, Vol. 28, 2, pp. 9–24, 2018.
6. R. Urcuyo, D. González and K. Cordero, "Perspectivas y aplicaciones reales del grafeno después de 16 años de su descubrimiento," *Revista Colombiana de Química*, Vol. 50,1, 2021, pp. 51-85.
7. D. J. Hernández, R. Ferrera and A. Alarcón, "Trichoderma: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial," *Chil. j. agric. anim. sci.* Vol.35,1, 2019.
8. R. Méndez, "Salinidad y óxido de grafeno: su influencia en la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)," Tesis de maestría., Ciencias Agropecuarias y Biotecnología, 2018.
9. I. Vera, "Nanopartículas de óxido de grafeno y micropartículas de grafito en la germinación y crecimiento de semillas de plántulas de *Solanum lycopersicum*," *Mundo nano [online].*, Vol.17, 32, 2024.
10. A.M. Medrano and N. Ortuño, "Control del Damping off mediante la aplicación de bioinsumos en almacigos de cebolla en el valle de Cochabamba-Bolivia," *Acta NOVA.*, Vol 3, 4, 2007.

ECUACIÓN ALOMÉTRICA PARA ESTIMAR BIOMASA ÁEREA FORESTAL EN FRESNOS DEL SUELO URBANO DE LA CIUDAD DE MÉXICO

Fabiola Rojas-García*, Diego García-Reséndiz

Universidad Rosario Castellanos

fabiosxto1981@gmail.com

RESUMEN

Las áreas urbanas no poseen grandes extensiones de bosque natural, en su lugar tienen parques, jardines y arbolado de alineación, así como relictos de vegetación natural, que en su conjunto conforman el bosque urbano. Las áreas verdes urbanas han adquirido importancia debido a que se han reconocido los servicios ecosistémicos urbanos a la población de las grandes ciudades. Los estudios de biomasa y carbono en la vegetación se han desarrollado para cuantificar los nutrientes; calcular la distribución de la materia orgánica; evaluar cambios en la estructura y estimar el contenido del carbono, pero se han desarrollado en su gran mayoría en bosques naturales. El método más exacto para la estimación de la biomasa es el procedimiento destructivo que consiste en cortar el árbol y cuantificar la biomasa de sus partes en términos de peso seco. A partir de esta técnica se pueden desarrollar ecuaciones alométricas que tienen una alta precisión. El objetivo general del trabajo fue generar una ecuación alométrica para estimar biomasa y carbono de fresno (*Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh.), uno de los árboles más comunes en el suelo urbano de la Ciudad de México. Se realizó un muestreo destructivo de 37 árboles, distribuidos en el arbolado de alineación de la Alcaldía Álvaro Obregón de la Ciudad de México, con distintas condiciones de vulnerabilidad a eventos meteorológicos o potencial daño a la población. Los árboles de fresno presentaron diámetro normal (DN) entre 10 y 141 cm. La biomasa de los componentes del árbol se estimó con base en el peso seco de 5 a 13 muestras por componente arbóreo, de conformidad con el tamaño del árbol. Con estos datos se estableció la relación entre peso fresco y peso seco para estimar valores de biomasa por componentes y del árbol total, además se ajustaron ecuaciones alométricas mediante técnicas de regresión no lineal. El mayor porcentaje de biomasa 71.9% se encontró en el fuste incluido el tocón y la corteza, mientras que en las ramas y el follaje estaba 15.7% y 12.4%, respectivamente. Con la biomasa y el DN de los árboles se determinaron los parámetros b y k del modelo potencial ($B=0.1235 \cdot DN^{2.4256}$, $R^2=0.979$). Las ecuaciones alométricas generadas para los fresnos del arbolado de alineación mostraron un buen nivel de ajuste por lo que el modelo es confiable para realizar una buena predicción de la biomasa aérea a partir del diámetro normal. Esta ecuación alométrica puede contribuir a la mejora de los escenarios del futuro balance de carbono de la Ciudad de México y otras megalópolis mexicanas.

INTRODUCCIÓN

La circulación del C comienza en la reserva atmosférica. Las plantas superiores adquieren el CO₂ atmosférico por medio de la fotosíntesis, pero parte del CO₂ regresa a la atmósfera (1). El carbono se almacena en la biomasa vegetal por efecto de la incorporación de este elemento durante la fotosíntesis, por lo tanto, la cantidad de carbono almacenado es proporcional a la biomasa (2).

La captura y almacenamiento de carbono son funciones, procesos y beneficios que se derivan de los recursos ecológicos, por esta razón son considerados servicios ecosistémicos (3). Aunque más del 80 % de las emisiones de CO₂ se originan en áreas urbanas, el papel de los asentamientos humanos en la evolución de la biosfera y en el ciclo global del carbono sigue estando en gran parte desatendido (4).

Resultado de los avances en ecología urbana surge el término servicios ecosistémicos urbanos, que involucran el análisis, evaluación y descripción de la infraestructura ecológica y sus productos en las áreas urbanas (5). Si bien, las áreas urbanas no poseen grandes extensiones de bosque natural, en su lugar tienen parques, jardines y arbolado de alineación, así como relictos de vegetación natural,

ya sea en propiedad pública o privada; en su conjunto son los elementos que conforman el bosque urbano (6).

Las áreas arboladas en las ciudades han adquirido mayor importancia debido a que brindan servicios ecosistémicos urbanos a una población en constante aumento (7). Los estudios de biomasa y carbono en la vegetación se han desarrollado para cuantificar los nutrimentos; calcular la distribución de la materia orgánica; estimar los combustibles forestales; evaluar cambios en la estructura y estimar el contenido del carbono (8, 9).

El método más exacto para la estimación de la biomasa es el procedimiento destructivo que consiste en cortar el árbol y cuantificar la biomasa de sus partes en términos de peso seco. A partir de esta técnica se pueden desarrollar ecuaciones alométricas que tienen una alta precisión (10).

El Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC) en su Guía de Buenas Prácticas (11) sugiere realizar el cálculo de la biomasa conforme al árbol de decisión de la Figura 1. El valor Tier indica el nivel de complejidad metodológica al momento de realizar inventarios de carbono.

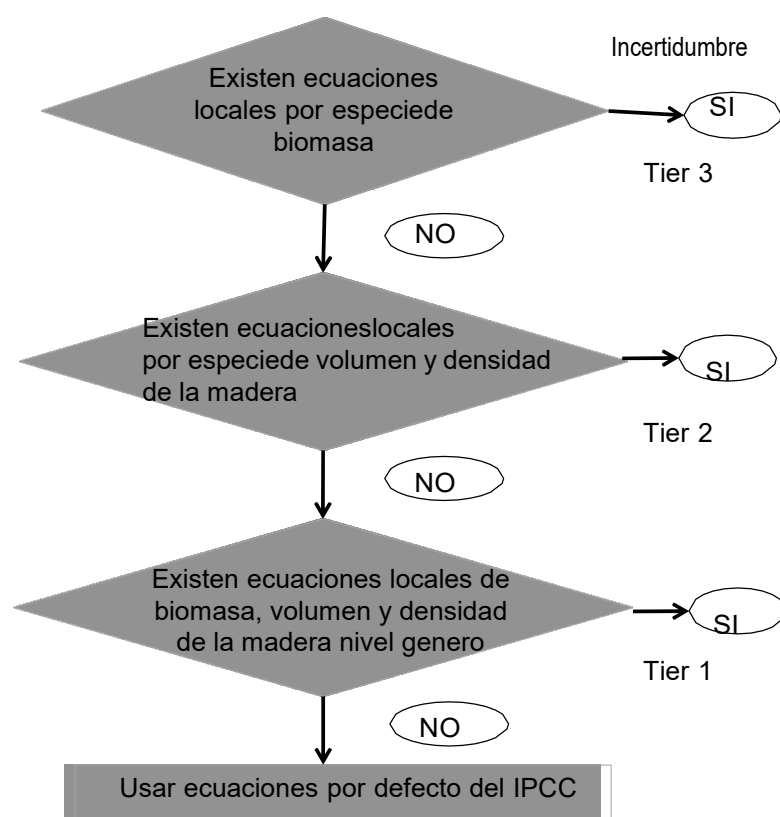


Figura 1. Árbol de decisión para la estimación de biomasa aérea.

En el nivel Tier 1 se ubican las estimaciones de carbono basados en valores por defecto proporcionados en tablas por el IPCC. Tier 2 implica mayor precisión con ecuaciones de biomasa, volumen y valores de densidad de la madera a nivel de país, el cual emplea modelos alométricos existentes para la especie o genero analizado, lo cual deriva en un menor nivel de incertidumbre. El nivel Tier 3 es el menor nivel de incertidumbre, ya que implica el uso de ecuaciones alométricas específicas.

A nivel nacional en México se han realizado números esfuerzos para generar modelos alométricos de biomasa aérea, subterránea, total o de algún componente de la planta. Sin embargo, las

ecuaciones producidas se han concentrado en especies de bosques naturales (i.e. *Pinus hartwegii* Lindl., *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham), entidades con alta producción forestal (i.e. Durango, Chihuahua) o tipos de vegetación con interés de conservación (i.e. bosques tropicales) (10). Se han desarrollado dieciocho modelos alométricos específicos en la Ciudad de México (CDMX) para estimar la biomasa de doce arbustos y seis árboles del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, estas ecuaciones permiten alcanzar un Tier 3 (12).

El objetivo general del trabajo fue generar una ecuación alométrica para estimar biomasa y carbono de fresno (*Fraxinus uhdei* (Wenz.) Lingelsh.), uno de los árboles más comunes en el suelo urbano de la Ciudad de México

PARTE EXPERIMENTAL

La Ciudad de México se localiza a 19°36' N y 99°03' S de latitud norte, y a 98°57' E y 99°22' O de longitud oeste; colinda al norte, este y oeste con el Estado de México y al sur con el estado de Morelos (13). Esta entidad federativa con la superficie más pequeña, pero con la ciudad más grande del país, presenta cinco tipos de clima que van de los semiáridos en las partes bajas, a los subhúmedos, templados y semifríos. Estos climas provocan temperaturas medias, entre los 8 y 22 °C, y regímenes de precipitación de 1 000 a 1 500 mm por año.

Administrativamente se compone por dieciséis alcaldías con una población de 9,209,944 habitantes (14). Con fines de planeación territorial, se divide en dos categorías: área de desarrollo urbano, usualmente denominada como suelo urbano, y área de conservación ecológica, conocida como suelo de conservación. El suelo urbano comprende el área de planicie urbanizada de la ciudad, en tanto que el suelo de conservación incluye áreas con ecosistemas naturales, localizadas en su mayoría sobre relieves abruptos, como el de las Sierra de Guadalupe y Ajusco (15).

Se desarrolló una ecuación alométrica específica para estimar la biomasa de *Fraxinus uhdei*, especie arbórea más abundante del suelo urbano de la CDMX (16, 17). Es un árbol caducifolio, que alcanza alturas de hasta 40 m y 1 m de diámetro normal (DN, diámetro medido al 1.3 m del suelo). Se caracteriza por un tronco derecho, libre de ramificaciones en la parte baja, cilíndrico con ramas delgadas ascendente. Copa compacta y redondeada hacia la punta, su sombra es densa (18). Es un árbol demandante de suelos con buen drenaje, resistente a heladas, con excepción de los primeros años de vida, y tolerante a sequías. Exitosamente plantado en Norte América (17).

Se utilizó el método destructivo, para ello se recibió apoyo de la Dirección de Infraestructura Verde de la SEDEMA y Protección Civil CDMX y de la empresa YAAX Soluciones Ambientales, que autorizaron mediciones de árboles en campo, la medición de árboles derribados por eventos meteorológicos extremos o con dictamen de derribo total, que se separaron en componentes, se pesaron y se colectaron muestras pequeñas de madera.

El peso fresco se obtuvo mediante el muestreo de las diferentes partes del árbol; las muestras fueron secadas en laboratorio para obtener el peso seco (19). El modelo ajustado será de la forma $Y = bX^k$, donde la variable dependiente (Y) será la biomasa (kg), y la variable independiente el DN (cm). Los parámetros “b” y “k” del modelo serán obtenidos por regresión lineal por el método de mínimos cuadrados; “b” mide el intercepto y “k” la pendiente del modelo (20).

RESULTADOS

Los árboles de fresno presentaron DN entre 10 y 141 cm. La biomasa de los componentes del árbol se estimó con base en el peso seco de 5 a 13 muestras por componente arbóreo, de conformidad con el tamaño del árbol.

La mayor cantidad de biomasa en árboles de fresno correspondió a la acumulada en el fuste, con 71.9% promedio. La biomasa de las ramas representó un promedio de 15.7% del total del árbol, y la del follaje con 12.4% de promedio.

La ecuación 1 para determinar la biomasa aérea en función del DN presentó un coeficiente de determinación $R^2 = 0.979$ (Figura 2) considerado muy aceptable, además el modelo original se linealizó.

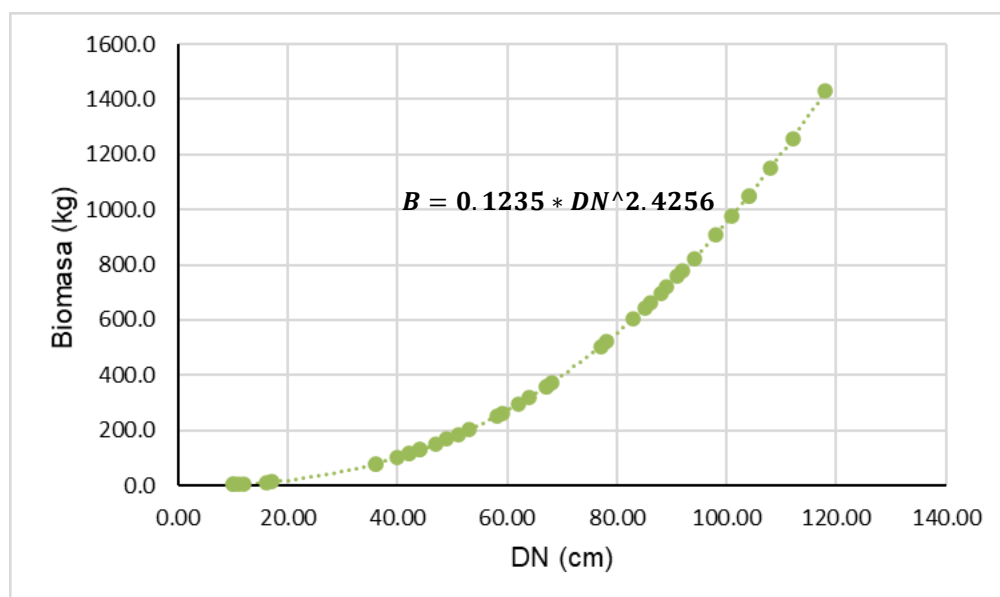


Figura 2. Dispersión de los valores de biomasa para *Fraxinus uhdei* su línea de regresión generada y su ecuación

El porcentaje de biomasa del fuste, las ramas y el follaje de *Fraxinus uhdei*, se ubicó dentro de los rangos encontrados para otras especies en México, tanto de coníferas como en latifoliadas (21-23); aunque la proporción de biomasa entre las partes del árbol pueden variar considerablemente con respecto a otras especies en función de su morfología.

Por ejemplo, si se tiene un fresno de 50 cm de DN, este árbol tendrá 1255.10 Kg de biomasa, y un contenido de carbono de 0.63 MgC, que corresponde a 2.30 tCO₂eq. Esta ecuación permitirá mejorar los escenarios del futuro balance de carbono en la CDMX con Tier 3.

CONCLUSIONES

Las ecuaciones alométricas generadas para los fresnos del arbolado de alineación mostraron un buen nivel de ajuste por lo que el modelo es confiable para realizar una buena predicción de la biomasa aérea a partir del diámetro normal. Esta ecuación alométrica puede contribuir a la mejora de los escenarios del futuro balance de carbono de la Ciudad de México y otras megalópolis mexicanas.

Es de suma importancia obtener datos cuantitativos y aplicar métodos que contribuyan al conocimiento del contenido de carbono en los bosques urbanos que disminuyan sensiblemente la incertidumbre en su evaluación. El desarrollo de trabajos de almacenamiento y captura de carbono en ciudades mexicanas produciría beneficios en la generación de escenarios de reservorios de carbono ante problemáticas como el cambio climático global y la presencia de plagas y enfermedades forestales.

BIBLIOGRAFÍA

1. IPCC. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. In: Eggleston HS, Buendia L, Miwa K, Ngara T, Tanabe K, editors. Hayama, Japan: Institute for Global Environmental Strategies; 2006.
2. Brown S. Measuring carbon in forests: current status and future challenges. *Environmental Pollution*. 2002;116(3):363–72.
3. Costanza R, d'Arge R, de Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*. 1997;387:253–60.
4. Churkina G. Modeling the carbon cycle of urban systems. *Ecological Modelling*. 2008;216(2):107–13.
5. Zaman-ul-Haq M, Saqib Z, Kanwal A, Naseer S, Shafiq M, Akhtar N, et al. The Trajectories, Trends, and Opportunities for Assessing Urban Ecosystem Services: A Systematic Review of Geospatial Methods. *Sustainability*. 2022;14(3).
6. Pataki DE, Alig RJ, Fung AS, Golubiewski NE, Kennedy CA, McPherson EG, et al. Urban ecosystems and the North American carbon cycle. *Global Change Biology*. 2006;12(11):2092–102.
7. Nowak DJ, Greenfield EJ, Hoehn RE, Lapoint E. Carbon storage and sequestration by trees in urban and community areas of the United States. *Environmental Pollution*. 2013;178:229–36.
8. Babst F, Alexander MR, Szejner P, Bouriaud O, Klesse S, Roden J, et al. A tree-ring perspective on the terrestrial carbon cycle. *Oecologia*. 2014;176(2):307–22.
9. Ver Planck NR, MacFarlane DW. A vertically integrated whole-tree biomass model. *Trees*. 2015;29(2):449–60.
10. Rojas-García F, de Jong BHJ, Martínez-Zurimendi P, Paz-Pellat F. Database of 478 allometric equations to estimate biomass for Mexican trees and forests. *Annals of Forest Science*. 2015;72(6):835–64.
11. IPCC. Orientación del Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático sobre las buenas prácticas para Uso de la Tierra y Silvicultura [Penman, J., Gytarsky, M., Hiraishi, T., Krug, T., Kruger, D.]. Rome, Italia: Intergovernmental Panel on Climate Change; 2003. 628 p.
12. Cano Santana Z. Flujo de energía a través de *Sphenarium purpurascens* (Orthoptera: Acrididae) y productividad primaria neta aérea en una comunidad xerófila. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1994.
13. CONABIO. La biodiversidad en la Ciudad de México I. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal (SEDEMA); 2016. 341 p.
14. INEGI. Marco Geoestadístico 2020 México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía; 2020 [Available from: https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=889463807469&fbclid=IwAR3VKpzE5wi5wjaFaAqpm9xOirxLBjSdYcAaegmMwzKxwfKOHpRe_p4-7B4].
15. SEGOB. Declaratoria de la línea limítrofe entre el área de desarrollo urbano y el área de conservación ecológica. Publicada el 16 de julio de 1987 en la Gaceta Oficial del Distrito Federal. Distrito Federal: Secretaría de Gobernación, Gobierno del Distrito Federal; 1987.
16. CONABIO. La biodiversidad en la Ciudad de México III. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Secretaría del Medio Ambiente del Distrito Federal (SEDEMA); 2016.
17. Grabinsky J, Chacalo A, Aldama A, Vázquez HJ. Si los árboles pudieran hablar. In: Chacalo A, Nava VC, editors. Árboles y arbustos para ciudades. México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2009. p. 102–7.
18. Calderón de Rzedowski G, Rzedowski J. Flora fanerogámica del Valle de México. Pátzcuaro, México: Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; 2005. 1406 p.
19. Picard N, Saint-André L, Henry M. Manual de construcción de ecuaciones alométricas para estimar el volumen y la biomasa de los árboles. Rome, Italie: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement, Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO); 2012. 223 p.

20. Gómez JD, Etchevers JD, Campo J, Monterroso AI, Paustian K, Asensio C. Allometric relationships to estimate aboveground biomass of species in a tropical dry forest of Central Mexico. *Madera y Bosques*. 2021;27(4).
21. Díaz R, Acosta Mireles M, Carrillo Anzures F, Buendía Rodríguez E, Flores Ayala E, Etchevers J. Determinación de ecuaciones alométricas para estimar biomasa y carbono en *Pinus patula* Schl. Cham. *Madera y Bosques*. 2007;13(1):25-34.
22. Gómez-Díaz JD, Etchevers J, Monterrosos-Rivas AI, Campo-Alvez J, Tinoco-Rueda JA. Ecuaciones alométricas para estimar biomasa y carbono en *Quercus magnoliaefolia*. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 2011;XVII(2):261-72.
23. Martínez-Domínguez A, Ruiz-Aquino F, Santiago-García W, Antúnez P, López-López MÁ, Valenzuela-Encinas C, et al. Allometric equations to estimate aboveground and belowground biomass of *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. *Forest Science and Technology*. 2020;16(3):161-70.

EFFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE Fe_3O_4 EN EL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM) DE CELULOSA

Norma Erika Jaramillo Gante, Arodí Bernal Martínez, Germán Cuevas Rodríguez

Universidad de Guanajuato

RESUMEN

Los procesos de digestión anaerobia son considerados como una tecnología sustentable para la generación de energía. La adición de nanopartículas (NPs) metálicas en los procesos de digestión anaerobia mejoran la eficiencia de los procesos aumentando la producción de metano. La adición de NPs de Fe_3O_4 mejoró la producción de metano en las pruebas de PBM obteniendo un aumento en comparación con el control de 26.98 %, 45.57 % y 27.4 % para los tratamientos de 50, 100 y 200 mgNPs Fe_3O_4 /L respectivamente. Para una concentración de 100 mg NPs Fe_3O_4 /L se alcanzó el valor más alto del potencial bioquímico de metano obteniendo un aumento del 36.96 % en comparación con el control.

INTRODUCCIÓN

La digestión anaeróbica es un método ampliamente utilizado para el tratamiento de sólidos orgánicos y aguas residuales debido a su buen desempeño en la reducción de materia orgánica y recuperación de energía en forma de metano. Además, que el tratamiento de residuos orgánicos mediante esta tecnología es uno de los pilares de la gestión sostenible de residuos y generación de energías renovables, dado que el principal producto de la digestión anaerobia es metano.

Los residuos lignocelulósicos son los materiales más abundantes y renovables que se emplean para la producción de biocombustibles [1]. Proviene principalmente de residuos que no se aprovechan en la alimentación o en otras industrias, por ejemplo: residuos agrícolas, desechos alimentarios, residuos industriales de origen orgánico y residuos de la silvicultura.

Sin embargo, debido a la complejidad en la estructura de los residuos lignocelulósicos, el rendimiento de metano en los procesos de digestión anaerobia es bajo. Por lo que, se han implementado diferentes técnicas para aumentar la producción. En los últimos años la adición de nanopartículas metálicas se ha empleado a los procesos de digestión anaerobia para aumentar el rendimiento de metano.

TEORÍA

Los residuos lignocelulósicos son materia vegetal seca, está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina [2]. La celulosa se encuentra entre un 25 a 67%, la lignina de un 32 a 55% y en menor cantidad, la hemicelulosa de un 10 a 34% [3].

La celulosa es un homopolisacárido lineal de monómeros de celobiosa, compuesto por dos unidades de β -glucopiranosas como se presenta en la Figura 1.

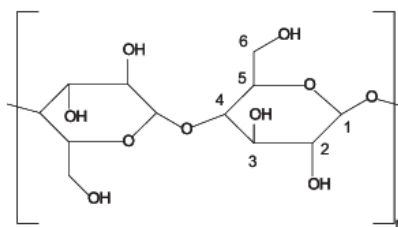


Figura 1. Estructura de la celulosa [2]

Dentro de un modelo de economía circular, los residuos orgánicos y el uso de plantas no comestibles son, sin duda, las materias primas más importantes para la producción sustentable de bioenergías [3]. Debido al alto contenido de carbono en los residuos lignocelulósicos, estos se consideran una fuente de energía, que se genera mediante procesos como: combustión, pirólisis, gasificación y licuefacción y digestión anaerobia [4,5]. La digestión anaeróbica (DA) es un método ampliamente utilizado para el tratamiento de sólidos orgánicos y aguas residuales debido a su buen desempeño en la reducción de materia orgánica y recuperación de energía en forma de metano [6]. Además, que el tratamiento de residuos orgánicos mediante esta tecnología es uno de los pilares de la gestión sostenible de residuos y generación de energías renovables [6]. La DA es un proceso mediado por microorganismos en el que el carbono orgánico se convierte, mediante reacciones de oxidación y reducción, a su estado más oxidado (CO_2) y a su forma más reducida (CH_4) [7].

El proceso de DA involucra cuatro etapas e intervienen cinco grupos de microorganismos, los cuales utilizan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo [9,10,11]. En los procesos de digestión anaerobia los oligoelementos necesarios son: hierro (Fe), níquel (Ni), molibdeno (Mo), cobalto (Co) y selenio (Se), son elementos que se han adicionado a los procesos para mejorar el rendimiento en la producción de metano [11]. Estos metales actúan como cofactores enzimáticos, por lo que, participan en diferentes reacciones biológicas dentro de proceso DA [11]. El requerimiento de nutrientes es una preocupación importante para el funcionamiento estable de los procesos digestión anaerobia. Se han encontrado problemas debido a la falta de ciertos metales trazas en el sustrato [12]. Aunque los procesos de DA son considerados como una tecnología sustentable, está limitada por las etapas de hidrólisis y acidogénesis [13]. Durante las últimas dos décadas, las nanopartículas (NPs) se han utilizado en los procesos de digestión anaerobia [14]. La aplicación de estos nanomateriales mejora la eficiencia de los procesos de DA aumentando la producción de biogás [15].

Las nanopartículas poseen una gran capacidad para penetrar las membranas celulares, debido a que presentan una alta conductividad electrónica. Por lo que, mejoran el transporte extracelular de electrones entre los microorganismos [14]. Esto, a su vez, aumenta la tasa de formación de metano y reduce la fase de latencia [16]. Las NPs de Fe_3O_4 liberan el ion ferroso o férrico, el Fe es un cofactor que aumenta la actividad de enzimas que participan en el proceso de DA [17]. Las enzimas que activa el Fe son: acetato quinasa, hidrogenasa, CO deshidrogenasa, Coenzima 420, formiato deshidrogenasa, formilmetanofurano deshidrogenasa.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizó como inóculo lodo anaerobio proveniente de un digestor ubicado en la planta de tratamiento de aguas residuales del rastro municipal de León Guanajuato. El inóculo se mantuvo a temperatura refrigeración (4°C) por un tiempo de 6 meses. La caracterización del inóculo se realizó midiendo los siguientes parámetros: sólidos totales (ST), sólidos totales volátiles, potencial oxido reducción (ORP) y actividad deshidrogenasa (ADH).

Como sustrato se empleó celulosa microcristalina (CAS 9004-34-6, Sigma-Aldrich) a una concentración de 18 gSV/L. Las nanopartículas de Fe_3O_4 se adquirieron por parte ID – nano Investigación y Desarrollo de Nanomateriales S.A de C.V.

Los métodos normalizados del APHA (2005) fueron empleados para determinar los siguientes parámetros: pH método 4500-H, sólidos totales y volátiles (ST, SV) por los métodos 2540 B y E, DQO por el método de reflujo cerrado 5220 D, para el ORP se utilizó un medidor de pH y Redox (CT-6821 pen pH y ORP).

La actividad deshidrogenasa (ADH) del lodo anaerobio se determinó por espectrofotometría después de la extracción del trifenilformazán (TPF) con acetona, las muestras del lodo se dejaron en contacto con 1ml de sal tetrazolio cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) y 3 gotas de tiosulfato, durante 1 hora a una temperatura de 20°C , posteriormente las muestras se centrifugaron a una velocidad de 3800

rpm, los sedimentos se re suspendieron en acetona y se rompieron por agitación, nuevamente se centrifugaron y se determinó la absorbancia del sobrenadante a una longitud de onda de 485 nm, la absorbancia se comparó con una curva de calibración y se calculó ADH.

Las pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM) se realizaron en condiciones mesofílicas a una temperatura de 37°C, con una agitación de 80 rpm, en botellas serológicas de 120 ml, selladas con tapón de goma y precintos de aluminio. Las botellas se llenaron con 40 ml de lodo anaerobio (39 gSV/L), 40 ml celulosa (18 gSV/L) y 20 ml de solución de NPs Fe₃O₄/L. La relación inóculo sustrato (ISR) fue de 2 gSV inóculo/g SV sustrato. La experimentación con nanopartículas de Fe₃O₄ se dividieron en dos pruebas. En la primera prueba se evaluó el efecto de las NPs Fe₃O₄ con la concentración que mejor favorece el incremento de la producción de metano, de acuerdo con la reportada en la literatura es de 100 mg/L. En la prueba 2 se evaluó el efecto de la Fe₃O₄ con dos diferentes de concentraciones de 50 y 200 mg/L.

Las suspensiones de NPs de Fe₃O₄ se sonicaron en un baño ultrasónico a temperatura ambiente a 240 W de potencia y una frecuencia de 40 kHz, por 4 horas para lograr la dispersión las nanopartículas. La producción de metano se midió por el método del desplazamiento del líquido (solución de NaOH al 3%). Las mediciones de volumen de metano fueron normalizadas utilizando la ecuación de los gases ideales. El PBM se expresó como el volumen de metano medido a condiciones estándar de presión y temperatura, por gramo de SV del sustrato añadido.

Tabla 1. Caracterización del inóculo

pH	7.6	±0	
ORP	-315	± 2.64	mV
Alcalinidad	5760	±0	mgCaCO ₃
DQO total	47.91	± 3.13	gDQO/L
DQO soluble	2.5	± 0.16	gDQO/L
ADH	54.92	± 8.09	mgTPF/L
ST	35.51	± 0.45	mgST/L
SV	27.2	± 0.28	mgSV/L
Fe total soluble	0.6	±0	mg/L

RESULTADOS

En la Fig. 1 se muestra el comportamiento de la DQO soluble en las dos pruebas de PBM. Se observa que el control de la prueba 1 y los tratamientos de la prueba 2 (Control_Prueba 2, 50 mg Fe₃O₄/L y 200 mg Fe₃O₄/L) disminuyen la concentración de DQO soluble durante los primeros 5 días, después de este día la DQO soluble empieza incrementar. Un aumento en la DQO soluble está relacionado con la hidrólisis de los sustratos sólidos. Dado que la celulosa es un sustrato sólido, su degradación ocurre la disminución de la concentración de sólidos totales volátiles.

En la figura 2 y 3 se observa la producción acumulada de metano para cada uno de los tratamientos evaluados, se observa que la producción acumulada de metano aumenta en los tratamientos que se añadieron las NPs de Fe₃O₄. En la Fig. 4 se muestra el porcentaje de incremento en la producción de metano para las concentraciones evaluadas, donde se observa que la concentración de 100 mg Fe₃O₄/L fue la obtuvo el mayor aumento con un 45.57 %, para la concentración de 50 mg Fe₃O₄/L fue de 26.98 % y para 200 de mg Fe₃O₄/L de 27.4 %.

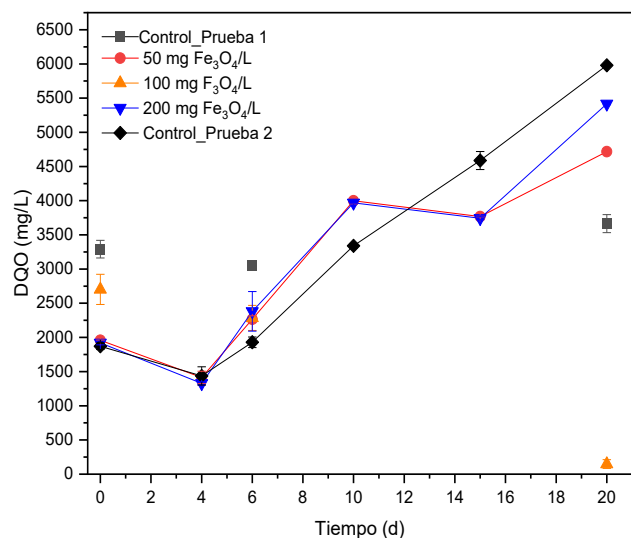


Figura 1.- DQO soluble en las pruebas de PBM

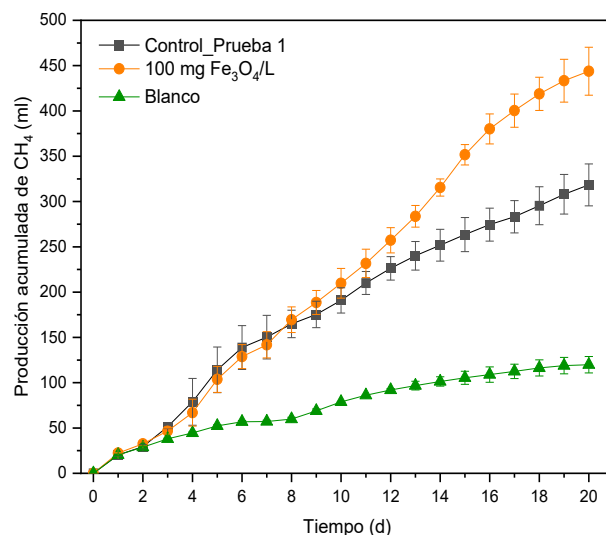


Figura 2. Producción acumulada de CH₄

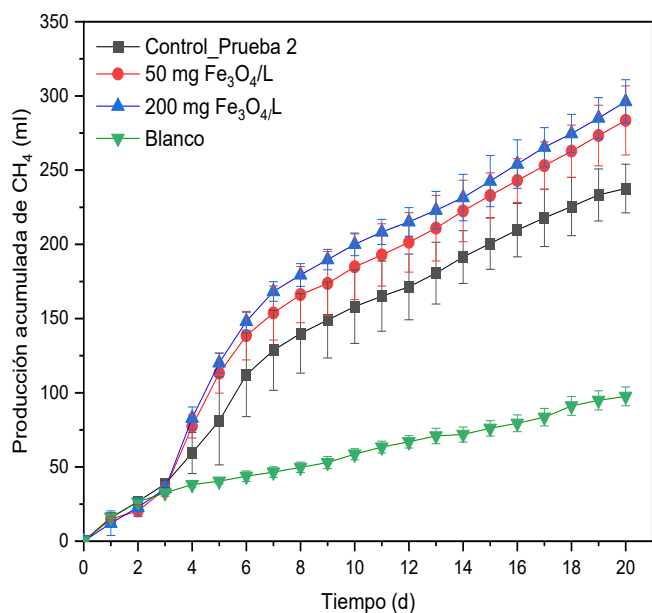


Figura 3. Producción acumulada de CH₄

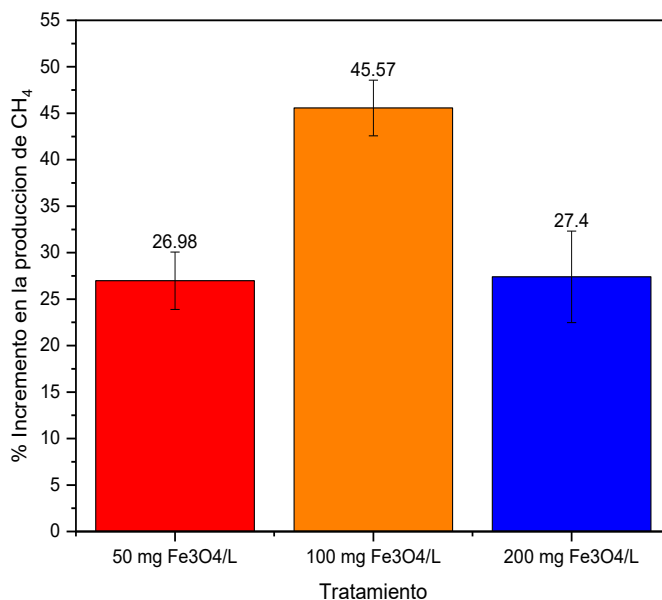


Figura 4. % de incremento en la producción de CH₄

En la Fig.5 se presenta el porcentaje de aumento en la actividad deshidrogenasa, donde se obtuvo un aumento de 64.69 % para la concentración de 100 mg Fe₃O₄/L, un 44.82 % para 200 de mg Fe₃O₄/L y un 34.75 50 mg Fe₃O₄/L. Por lo que, de acuerdo con el aumento en la producción de metano y en la actividad deshidrogenasa se obtuvo que la concentración 100 mg Fe₃O₄/L favoreció los dos incrementos.

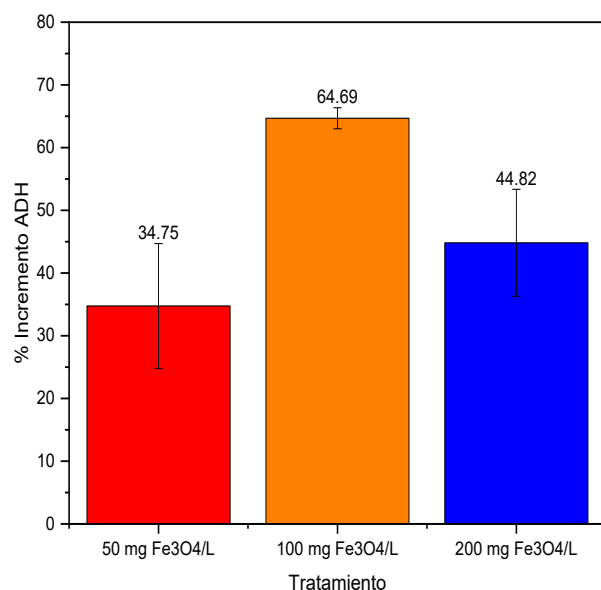


Figura 5. Porcentaje de incremento en la ADH

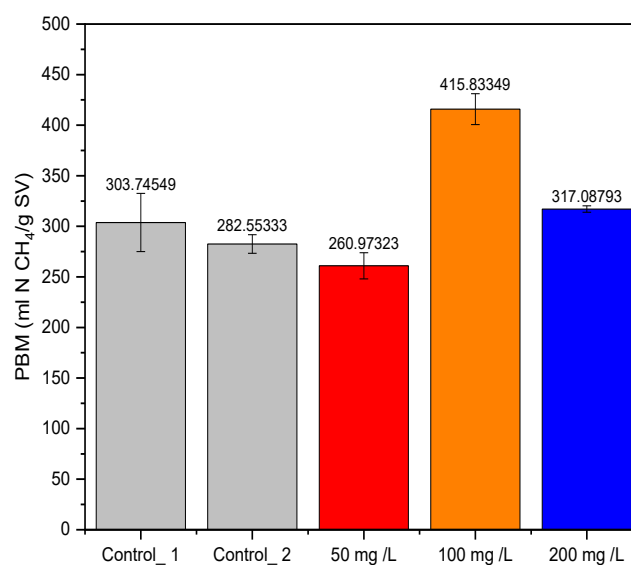


Figura 6. Potencial Bioquímico de Metano

Se realizó un análisis de varianza y se determinó que el valor de P es menor a 0.05, por lo tanto, si existe una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones evaluadas las NPs de Fe₃O₄. La concentración de nanopartículas de 100 mgNPsFe₃O₄ aumento un 36.90 % el valor del potencial bioquímico de metano en comparación con el control.

CONCLUSIONES

La adición de NPs de Fe₃O₄ mejoró la producción de metano en las pruebas de PBM obteniendo un aumento en comparación con el control de 26.98 %, 45.57 % y 27.4 % para los tratamientos de 50, 100 y 200 mgNPsFe₃O₄/L respectivamente. También se obtuvo un aumento en la actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH) incrementando un 34.74%, 64.68% y 44.82 para 50, 100 y 200 mgNPsFe₃O₄/L respectivamente, dando una mayor actividad para la 100 mgNPs/L. El aumento en la actividad deshidrogenasa está relacionado con la adición de las NPs de Fe₃O₄ debido a que el Fe es un cofactor de la enzima deshidrogenasa. La adición de las NPs de Fe₃O₄ presentaron un efecto positivo en las pruebas de PBM, aumentando el valor PBM en comparación con el control un 36.96 % para la 100 mgFe₃O₄/L.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sanna A. 2014. Advanced biofuels from thermochemical processing of sustainable biomass in Europe. BioEnergy Research. DOI 10.1007/s12155-013-9378-4
2. Collard F-X, Blin J.2014. review on pyrolysis of biomass constituents: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicelluloses and lignin. Renewable and Sustainable Energy Reviews. DOI 10.1016/j.rser.2014.06.013
3. Tinoco Valencia R., Serrano Carreón L. 2021. Potencial de los residuos lignocelulósicos para impulsar el desarrollo sustentable. Biotecnología en movimiento. Revista de divulgación del Instituto de Biotecnología de la UNAM.
4. Goyal H, Seal D, Saxena R. 2008. R. Bio-fuels from thermochemical conversion of renewable resources: a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. DOI.org/10.1016/j.rser.2006.07.014.
5. Brethauer S, Studer MH. 2015. Biochemical conversion processes of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals. DOI:10.2533/chimia.2015.572

6. Abdelsalam M. y Samer M. 2019. Biostimulation of anaerobic digestion using nanomaterials for increasing biogas production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* volume 18, pages525–541 (2019). Recuperado de: DOI10.1007/s11157-019-09505-0
7. Kougias Panagiotis G., Angelidaki Irini. 2018. Biogas and its opportunities—A review. *Environ. Sci. Eng.* <https://doi.org/10.1007/s11783-018-1037-8>
8. Pavlostathis S.G., Giraldo-Gomez E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment. *Wal. Sci. Tech.* Vol. 24, No.8, pp. 35-59, 1991
9. Ventorino, V., Romano, I., Pagliano, G., Robertiello, A., Pepe, O., 2018. Pre-treatment and inoculum affect the microbial community structure and enhance the biogas reactor performance in a pilot-scale biodigestion of municipal solid waste. *WASTE Manag.* 73, 69–77 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.12.005>
10. Li, L., He, J., Wang, M., Xin, X., Xu, J., Zhang, J., 2018. Efficient Volatile Fatty Acids Production from Waste Activated Sludge after Ferrate Pretreatment with Alkaline Environment and the Responding Microbial Community Shift. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 6, 16819–16827. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b04115>
11. Voelklein M.A., O'Shea R., Murphy J.D. 2017. Role of trace elements in single and two-stage digestion of food waste at high organic loading rates. *Energy* (2017), doi: 10.1016/j.energy.2017.01.009
12. Qiang H., Lang D.L., Li Y.Y. 2012. High-solid mesophilic methane fermentation of food waste with an emphasis on Iron, Cobalt, and Nickel requirements. *Bioresource Technology* 103 (2012)
13. Syahri, S.N.K.M., Hasan, H.A., Abdullah, S.R.S., Othman, A.R., Abdul, P.M., Azmy, R.F.H.R., & Muhamad, M.H. 2022. Recent Challenges of Biogas Production and its Conversion to Electrical Energy. *Journal of Ecological Engineering*, 23(3), 251-269
14. Heikal G., Shakroum M., Vranayova Z., Abdo A. 2022. Impact of Nanoparticles on Biogas Production from Anaerobic Digestion of Sewage Sludge. *Journal of Ecological Engineering*. <https://doi.org/10.12911/22998993/150719>
15. Holmes, A. B., & Gu, F. X. 2016. Emerging nanomaterials for the application of selenium removal for wastewater treatment. *Environmental Science: Nano*, 3(5), 982-996.
16. Ren, S., Usman, M., Tsang, D. C., O-Thong, S., Angelidaki, I., Zhu, X. & Luo, G. 2020. Hydrochar-facilitated anaerobic digestion: evidence for direct interspecies electron transfer mediated through surface oxygen-containing functional groups. *Environmental Science & Technology*, 54(9), 5755-5766

ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD DE UNA LÍNEA DE PRODUCCIÓN PARA ELABORACIÓN DE HARINA A BASE DE LOS RESIDUOS DEL TALLO DEL BROCOLÍ

Erika Ramos Ojeda, Christian Oliver Díaz Ovalle, Fabiola Herrera Enciso, Aidee Daniela López Acosta

Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México Roque
erika.ro@roque.tecnm.mx

RESUMEN

Actualmente las industrias dedicadas a la importación y exportación del brócoli desechan aproximadamente más de 1 tonelada de tallos a la semana, el cuál es utilizado como alimento para ganado. El tallo de brócoli tiene un alto contenido de isotiocianatos, antocianinas, glucosinolatos, fenoles, flavonoides y vitaminas. Por lo que la industria de alimentos está inmersa en la responsabilidad social en donde busca contribuir el desarrollo sostenible. Por lo que la presente investigación realiza un análisis de factibilidad incorporando una línea de producción para la elaboración de harina de brocolí aprovechando el recurso disponible. Para el diseño de la línea de producción se requieren los siguientes equipos: lavadora de tallos, secador de aspersión, molino, tamizador y empacadora. Se obtuvo del análisis de factibilidad una producción de 66 kg de harina a la semana por tonelada de tallos, lo cual tendría un costo de \$131 en el mercado con una ganancia del 45%. Ya que también fueron considerados los servicios para su elaboración como luz, agua y combustible. Sin lugar a duda la producción de harina es viable ya que en la actualidad se busca la producción de alimentos funcionales y el aprovechamiento de los recursos.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad Guanajuato representa más del 67% de producción de brocolí a nivel nacional². Se estima que solo el 30% de brocolí es aprovechado y el resto se desecha para alimento de ganado³. Mientras que en el procesamiento del brocolí existen mermas que no pasan por los estándares de calidad como el tamaño, color o alguna otra característica. Parte importante que se desecha por su dureza es el tallo el cual tiene un alto contenido de compuestos bioactivos, principalmente compuestos fenólicos, fibra dietética, carotenoides y glucosinolatos este último produce sustancias anti cancerígenas¹. Actualmente cerca del tercio de la producción mundial de alimentos para consumo humano se pierde o desperdicia 1.3 millones de toneladas al año. Por lo que el aprovechamiento del subproducto del brocolí para el desarrollo de nuevos productos en la industria Alimentaria con alto nivel nutrimental le da un valor agregado a sus residuos, contribuyendo al control de enfermedades degenerativas. Por lo que la elaboración de una línea de producción para producir harina del subproducto del brocolí y obtener la factibilidad de esta. La cual por su fuerte sabor puede ser combinada con otras harinas para la industria de panificación, snack o pastas. La factibilidad de esta se basa en la ganancia que puede llegar la industria con el aprovechamiento del recurso.

METODOLOGÍA

Se realizó la línea de producción para la elaboración de harina de brocolí a base del tallo del brocolí. Para poder determinar la factibilidad de la línea de producción se inició con la selección de los equipos involucrados en el proceso para la elaboración de la harina como se muestra en la figura 1.

- **Materia Prima:** La industria procesadora de brocolí ya sea de manera congelada o en refrigeración, realiza los desechos del tallo. El aprovechamiento de este subproducto para una nueva línea de producción.
- **Cortado:** Se realiza el corte de los tallos de manera horizontal, para que la deshidratación sea más rápida y se requiera menor cantidad de energía en el secado.
- **Lavadora:** Se lavan previamente los palitos de brocolí.

- **Escaldación:** Se realiza para evitar cambios en las enzimas y evitar pérdidas de sabor, color u otras características de textura implicadas en la elaboración de harina. Esto se lleva a cabo durante 3 a 4 min en agua a 70°C.
- **Secador:** Se realiza en un secador de flujo suave, operación continua, sin centrifugación. Esta se llevó a cabo a una temperatura no mayor a los 60°C.
- **Molienda:** Todos los tallos deshidratados se pasaron por un molino de bolas para triturar lo más fino posible.
- **Cribar:** Se paso la harina por un cribadora para logra la separación de las partículas finas y las gruesas.
- **Empaquetado:** La harina fina es empaquetada para su venta.

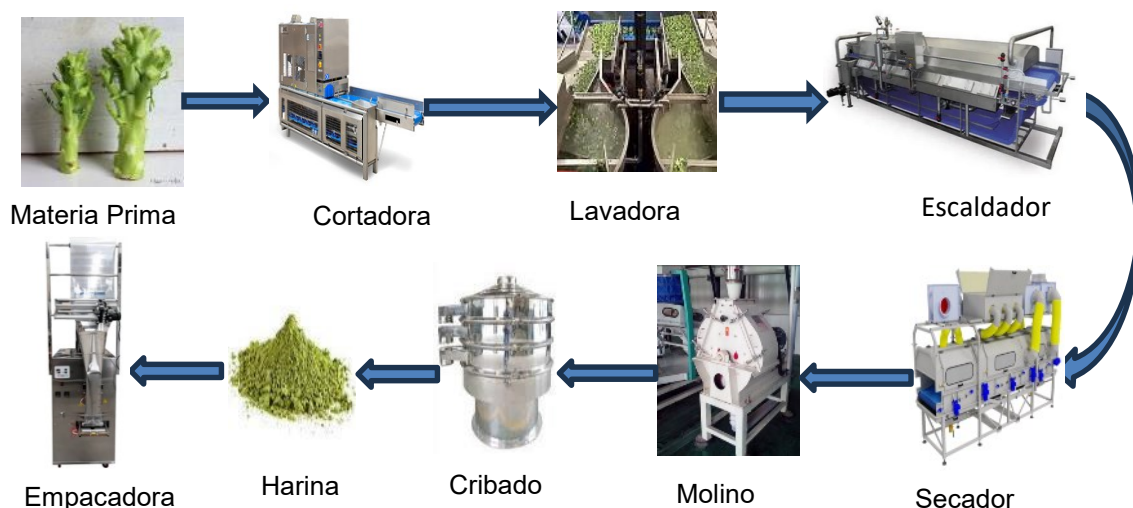


Figura 1 . Proceso para la elaboración de harina de los tallos del brocolí

Se obtuvieron las características de cada uno de los equipos como se muestra en la Tabla 1, en donde se describe la potencia y los costos fijos de estos. La industria dedicada a la exportación e importación de brocolí ya cuenta con alguno de los equipos para el aprovechamiento de los residuos como es la lavadora, cortadora y empacadora. Sin embargo, se proporciona la información para industrias compradoras de los subproductos para elaboración de productos funcionales con alto nivel nutricional.

Tabla 1. Especificaciones de los equipos

Equipos	Características	Costo del Equipo
Cortadora	• Potencia: Motor de corte 40W / Motor de transporte 40W • Voltaje: 110V / 60Hz • Tamaño de la máquina: 50 x 35 x 52 cm / 17 kg	\$80000
Lavadora	• Tamaño: 1000-1500 kg/h • Potencia: 1.5kw • Voltaje: 380v	\$47500

Escaldadora	• Potencia 1.5 Hp • Voltaje 220/380 v • Tamaño 100 kg/h	\$68000
Secador	• Tamaño 200 - 2000 Kg/h • Voltaje: 220 V • Potencia: 4.8 Kw	\$121600
Molino	• Tamaño: 20-150 kg/h • Potencia: 4kw • Voltaje: 380v	\$39000
Cribado	• Potencia :0.75 kw	\$71420
Empacadora	• Potencia: 200w • Velocidad: 10-25 bolsas/min • Anchura de Bolsa: 10 / 15 / 20 cm • Voltaje: 110v.	\$84,490

RESULTADOS

Se consideraron los costos de los servicios que fue energía eléctrica y agua como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Costos de servicios

Equipo	Total Agua	Servicio Energía
Cortadora	_____	485.16 kw
Lavadora	26260 litros/8750kg	132.55kw
Escaldadora	5000 litros/8750kg	351.56 kw
Secado	_____	600.93kw
Molino	_____	35.81kw
Cribado	_____	4.81kw
Empacadora	_____	3.15 kw
TOTAL	\$35000.93	\$51207.90

El costo de del agua es de \$28.52 por m³, mientras que el costo de energía es de \$1.0576 (kWh). Por lo que el costo de consumo para producir harina de brocolí es el siguiente: si se considera una línea de producción que procesa 10 tarimas diarias con 50 cajas y 35 bolsas de 500g.

Si se sabe que comercialmente el kilo de harina de brocolí tienen un costo de \$131 en el mercado. Se realizó el proceso y se determinó que con un tallo de brocolí de entre 2- 6 cm de diámetro y una altura de 20 a 50 cm se obtiene entre 80-100 gramos. El estudio se realizó para 10 tarimas, la cual

contine 50 cajas, con 35 bolsas de 500g con una producción de 8750 kg de harina en una jornada de 16 horas.

Por lo que se tiene un gasto en costos fijos de \$512,010 y costo variable al mes de \$86,208.83 sin incluir mano de obra. Al mes se producen 262,500kg de harina de brocolí, Obteniendo una ganancia inicial del 8% despues de seis meses y después de tres años del 45%.

CONCLUSIONES

Por lo que la elaboración de harina del brocolí es factible para su producción y venta, en donde contribuye al cuidado del medio ambiente y la parte nutrimental de las personas. El crecimiento de la empresa es evidente y factible, pero las ganancias se verán reflejadas a partir de los 3 años ya que al inicio se paga toda la maquinaria que corresponde al costo fijo. La industria se debe comenzar a incorporar a otros mercados y considerar clientes como lo es la industria panificadora, de pastas y snack. De esta manera se amplía el mercado de manera considerada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dziki, D., Habza-Kowalska, E., Gawlik-Dziki, U., Miś, A., Rózyło, R., Krzysiak, Z., & Hassoon, W. H. (2020). Drying Kinetics, Grinding Characteristics, and Physicochemical Properties of Broccoli Sprouts. *Processes* 2020, Vol. 8, Page 97, 8(1), 97.
2. Rejón Segura, S. (2022). Efecto de las condiciones de procesado sobre la cinética de secado y las propiedades antioxidantes de tallos de brócoli. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/18821https://doi.org/10.3390/PR8010097>.
3. Vázquez-González, C., Mejía-Garibay, B., Robles-López, M. R., & Ramírez-López, C. (2020). Impacto de las tecnologías de procesamiento del brócoli sobre compuestos fitoquímicos relevantes en salud humana: una revisión. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 21(2).

ENRIQUECIMIENTO DEL ENSILADO DE AGAVE CON HOJA Y VAINA DE MEZQUITE COMO ALTERNATIVA EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Servando Reyes-Castro^{1*}, Graciela M. L. Ruiz-Aguilar¹, Héctor Gordon Nuñez-Paleniús¹, Diana Angélica Gutiérrez-Arenas¹, Víctor Olalde-Portugal², Juan Teodomiro Frías-Hernández³, Sarai Camarena-Martínez¹

¹División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato.

²CINVESTAV, Unidad Irapuato, ³Proyectos Biosustentables SC.

*s.reyescastro@ugto.mx

RESUMEN

La situación actual en el Estado de Guanajuato y el país, con respecto a la disponibilidad de agua para la producción de forrajes, es crítica debido a la sequía que se ha presentado en los últimos años. En el año 2023 los 46 municipios del estado de Guanajuato y el 50% de los municipios del país sufrieron algún grado de sequía; ante este panorama, alimentar al ganado se convierte en todo un reto, sobre todo para los productores de ganadería familiar que dependen de los pastos nativos y de las lluvias para mantener sus unidades de producción. Por lo anterior, es apremiante el uso de alternativas forrajeras en donde se maximice el uso del recurso hídrico con fines de alimentación animal. El agave es una planta con gran eficiencia en el uso del agua, que se adapta a lugares secos y tolera grandes periodos de sequía y produce alta cantidad de biomasa que podría ser usada en la alimentación animal. Las hojas representan alrededor del 48% del peso total de la planta de agave, y considerando la producción de bebidas de las industrias del mezcal y del tequila, se calculó que aproximadamente 3.38 millones de toneladas quedaron en campo como residuos del proceso en los años 2022 y 2023. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el enriquecimiento nutricional del ensilado de agave con la adición de plantas locales, como el mezquite, con la finalidad de aumentar el contenido de proteína cruda. Se utilizaron hojas de *Agave salmiana* y *Agave americana* para la elaboración de microsilos de 1 kg. Los tratamientos fueron T1: 100% ensilado de *A. salmiana*; T2: 70% *A. salmiana* + 30% de hoja de mezquite; T3: 70% *A. salmiana* + 30% de vaina de mezquite; T4: 100% ensilado de *A. americana*; T5: 70% *A. americana* + 30% de hoja de mezquite; T6: 70% *A. americana* + 30% de vaina de mezquite. Se almacenaron por 60 días y posteriormente se realizó el análisis bromatológico. Los resultados muestran un incremento marcado en el contenido de proteína cruda en el ensilado de ambas especies de agave al incluir hojas y vainas de mezquite en el proceso. La utilización de hoja de mezquite mostró el mayor incremento de proteína cruda en ambas especies con respecto a la inclusión de vaina de mezquite y al tratamiento testigo. El uso de hojas y vainas de mezquite contribuyeron a mejorar la calidad del ensilado de agave, incrementando principalmente el contenido de proteína cruda, además de modificar otros parámetros como son el contenido de energía y la cantidad de nutrientes digestibles totales presentes en el ensilado. Los resultados indican que se podría alimentar animales, principalmente rumiantes, al ensilar una mezcla de hojas de agave con hojas y vainas de mezquite, evitando muertes y pérdidas de peso del ganado en la época crítica del año.

Introducción

Los productores pecuarios en México, especialmente los de ganadería familiar, enfrentan problemas para alimentar el ganado durante la época de estiaje, esto se debe principalmente, a que la producción se desarrolla bajo sistemas de pastoreo y dependen de la disponibilidad de forraje en el campo, lo que representa una ventaja económica debido a la disminución de costos, pero la vuelve vulnerable a las variaciones climatológicas y en particular a las sequías (Partida *et al.*, 2013), siendo ésta el fenómeno climático que más ha afectado al sector agropecuario mexicano a lo largo del tiempo (CONAZA, 2010).

Al 31 de enero de 2024 varios estados del país presentaron sequía en el 100% de su territorio, como Aguascalientes, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Morelos, Querétaro

y Sinaloa, mientras que, a nivel nacional, más del 63% de los municipios presentaron sequía en algún grado (CONAGUA, 2024).

Lo anterior obliga a la búsqueda y evaluación de alternativas que contribuyan a cubrir la necesidad de alimentar al ganado, utilizando forrajes que sean eficientes en el uso del agua, disminuyendo la necesidad de riego y, por ende, la huella hídrica, minimizando el impacto que esta actividad tiene en el ambiente.

Una alternativa para alimentar al ganado es el uso de los recursos forrajeros autóctonos, tales como los agaves y mezquites, que son plantas adaptadas a ambientes secos, que toleran grandes periodos de sequía y pueden producir una gran cantidad de biomasa, además, los agaves son las plantas más reconocidas en las zonas áridas y semiáridas de México, consideradas especies clave en esas regiones (García, 2007; CONABIO, 2024).

Las hojas o pencas representan entre el 46 y el 48.5% del peso total de la planta de agave (Íñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001; Montañez-Soto *et al.*, 2011; Montañez *et al.*, 2011), las cuales son consideradas un residuo de las industrias del tequila y el mezcal, ya que solo se utiliza el tallo o piña en el proceso de elaboración de estas bebidas. Considerando que en el año 2023 se utilizaron 2,288,100 t de piña de agave para la producción de tequila (CRT, 2023) y 122,396.55 t de piña para la elaboración de mezcal (COMERCAM, 2024) significa que se quedaron alrededor de 2,225,073 t de hojas en campo, que podrían emplearse en la alimentación de rumiantes, como bovinos, ovinos y caprinos.

Diversos estudios muestran que las hojas de agave presentan un bajo contenido de proteína cruda, por lo que debe buscarse la inclusión de ingredientes que ayuden a mejorar este parámetro. Se ha demostrado que el uso de urea y pasta de soya en el ensilado de *Agave tequilana* incrementa el contenido de proteína cruda de manera importante, entre 31 y 39% (Reyes-Castro, 2022; Reyes-Castro *et al.*, 2022), lo que podría convertirse en una opción para elevar el valor nutritivo en este forraje. Sin embargo, el uso de urea en la alimentación animal debe tomarse con cautela por el peligro que puede llegar a representar para los animales, mientras que la pasta de soya podría incrementar de manera significativa los costos de producción.

En México existen plantas que han sido ampliamente estudiadas, como el mezquite, que presenta características interesantes para su uso en la alimentación animal, sin embargo, son subaprovechadas por los productores (Ruiz, 2011) y no representan riesgos a la salud del ganado.

Por lo anterior, el presente trabajo busca evaluar el incremento en proteína cruda al ensilar hoja de agave mezclada con hoja y vaina de mezquite.

REVISIÓN DE LITERATURA

En México, la importancia del agave es de carácter agroecológico y socioeconómico debido a sus múltiples usos, ya que numerosos pueblos indígenas y mestizos lo han aprovechado durante siglos como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible (leña), cobijo, ornato, fibras duras extraídas de las hojas (ixtle), abono, construcción de viviendas y elaboración de implementos agrícolas, entre otros usos (García, 2007; García-Herrera *et al.*, 2010). Los ganaderos utilizan las hojas e incluso la piña de agave picada y combinada con resquillos agrícolas como suplemento para sus animales dado que proporcionan altos niveles de energía digestible, minerales y agua, además de aportar una buena cantidad de carbohidratos solubles que cubren los requisitos de mantenimiento y producción. Los agaves poseen un bajo contenido de proteína cruda (PC) en sus hojas (Cuadro 1) de manera general, por lo que es necesario suplementar con nitrógeno a través de la inclusión de granos o bien, mediante una fuente de nitrógeno no proteico, mismo que las bacterias del rumen necesitan para digerir la fibra (García-Herrera *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Contenido de proteína cruda en las hojas de diferentes especies de agave.

Especie	% de PC	Autores
<i>A. tequilana</i>	2.6 – 5.2	Montañez-Soto <i>et al.</i> (2011); Ortíz-Torres <i>et al.</i> (2014); Jimenez-Muñoz <i>et al.</i> (2016).
<i>A. salmiana</i>	2.5 – 8.4	González (1994); Gómez (2003); Pinos-Rodríguez <i>et al.</i> (2008b); Mata-E. <i>et al.</i> (2011); Ortíz-Torres <i>et al.</i> (2014).
<i>A. Mapisaga</i>	2.6	Mata-E. <i>et al.</i> (2011).
<i>A. americana</i>	5.3	Gómez (2003).

El mezquite (*Prosopis spp*) es un árbol que tiene un amplio rango de distribución, desde el nivel del mar y hasta los 2500 msnm, aunque crece bien en zonas áridas y semiáridas, se adapta a lugares con baja precipitación (150 mm al año) y con radiación solar intensa. Crece en suelos muy pobres e incluso erosionados, convirtiéndolo en una opción para su recuperarlos (CONABIO, 2024), además, estos árboles pueden llegar a producir casi 32 kg de vaina cada uno y hasta 3.7 Mg ha⁻¹ (García-López *et al.*, 2018), lo que representa un ingreso adicional para campesinos de las regiones donde es aprovechado, ya que constituye un alimento de buena calidad para el ganado (CONAZA, 1994).

Sus vainas y hojas poseen cantidades variables de proteína cruda (Cuadro 2), dependiendo de diversos factores que pueden afectar este parámetro. La semilla puede llegar a tener hasta 60% de PC, aunque son de difícil digestión para los animales, ya que pueden pasar por el tracto digestivo sin ser degradadas, por lo que es recomendable triturarlas y ofrecerlas a los animales en forma de harina para que puedan ser aprovechadas de mejor manera (Paredes y Urrutia, 2004; Gómez, 2013; CONABIO, 2024), lo que podría ayudar a incrementar el valor nutricional del ensilado de agave.

Estudios realizados por diferentes autores muestran un contenido variable en la PC encontrada en las hojas de mezquite, atribuible a diversos factores, entre ellos la especie, variaciones genéticas, etapa fenológica, nutrientes en el suelo, época del año, etc. (Gómez, 2013).

Aunque se ha demostrado la existencia de factores antinutricionales en el mezquite, como taninos condensados, también se ha demostrado que éstos no provocan efectos negativos sobre las paredes ruminales y el crecimiento de cabritos (Gómez, 2013; Awawdeh *et al.*, 2018) y podrían tener efectos positivos al presentar una protección natural contra la degradación ruminal de la proteína cuando se presentan contenidos superiores al 4% (Escobar, 1996).

Estos contenidos de PC podrían ser aprovechados para elevar la calidad nutricional de las dietas de rumiantes, mejorando con ello los parámetros productivos y reproductivos del hato.

Cuadro 2. Contenido de PC en hojas y vainas de mezquite reportado por diferentes autores

HOJA		VAINA	
% de PC	REFERENCIAS	% de PC	REFERENCIAS
23.8	Martínez (2006)	11.4	Buzo <i>et al.</i> (1972)
15.8	Delgado (2007)	8.1-10.3	García-López <i>et al.</i> (2019)
20.0	Ramírez (2008)	12.06	Armijo-Nájera <i>et al.</i> (2019)
14.8	Cerrillo <i>et al.</i> (2010)	12.30	Montañez-Valdez <i>et al.</i> (2021)
22.9	Torres (2013)		

En el Altiplano Potosino el uso de la vaina de mezquite en la alimentación animal está ampliamente difundido, aunque el 97% de los productores la ofrecen entera (sin moler), ya sea sola o mezclada

con esquilmos agrícolas, sub aprovechando sus beneficios en la producción pecuaria (Ruiz, 2011). Especies como el nopal, agave y mezquite pueden convertirse en opciones como recursos forrajeros con alto potencial para la alimentación del ganado en la época de secas (Baraza *et al.*, 2008), además de reducir los costos de la dieta (CONAZA, 1994; Galaviz *et al.*, 2022), promoviendo un mayor beneficio económico para los pequeños productores del sector pecuario en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el municipio de San Miguel de Allende, Guanajuato, localizado en la zona centro-este del Estado de Guanajuato, colinda al norte con los municipios de Dolores Hidalgo y San Luis de la Paz; al este con el municipio de San José Iturbide y el Estado de Querétaro; al sur con el Estado de Querétaro y los municipios de Apaseo el Grande, Comonfort y Santa Cruz de Juventino Rosas; al oeste con los municipios de Santa Cruz de Juventino Rosas, Salamanca y Dolores Hidalgo. El municipio presenta un clima BSh (semiárido cálido) de acuerdo con la clasificación climática de Köpen modificada por Enriqueta García (1998).

Se utilizaron hojas de plantas adultas de *Agave salmiana* y *Agave americana* antes de presentar escape floral. Una vez cortadas las hojas de *A. salmiana* se dejaron reposar en campo por 30 días antes de la molienda para disminuir el contenido de humedad, para el caso de *A. americana* el material sólo se dejó reposar por tres días.

Las hojas de mezquite (HM) se colectaron de árboles adultos ubicados en los alrededores del sitio de trabajo, se pre secaron durante 6 h con el fin de disminuir el contenido de humedad.

La vainas se utilizaron en forma de harina integral (HVM), la cual fue donada por una empresa dedicada a elaboración de dulces a base de harina de vaina de mezquite.

La molienda de las hojas de agave se realizó con una máquina picadora especializada para tal fin, con mecanismo de martillos y cuchillas accionadas mediante toma de fuerza de un tractor a 5,000 rpm, a un tamaño de partícula aproximada de 2 cm.

Una vez picado el material, se pesó y se adicionaron las HM y HVM de acuerdo con cada tratamiento, mezclando hasta obtener un material homogéneo.

Se elaboraron microsilos en botes de plástico con tapa de cierre hermético, dentro de éstos se colocó una bolsa de polietileno con dos kg de material mezclado, se presionó de manera manual para eliminar aire, antes de sellar las bolsas se usó una aspiradora comercial para uso doméstico con la finalidad de eliminar la mayor cantidad de aire presente en el microsilo. Se realizaron los siguientes tratamientos: T1=100% hoja de *A. salmiana*. T2=70% de hoja de *A. salmiana* y 30% de HM. T3=70% de hoja de *A. salmiana* y 30% HVM. T4=100% hoja de *A. americana*. T5=70% hoja de *A. americana* y 30% HM. T6=70% hoja de *A. americana* y 30% de HVM. Una vez sellados los microsilos se almacenaron a la sombra y en un lugar seguro para evitar ruptura o daño que permitiera entrada de aire y así poder realizar los análisis posteriores. Los microsilos se abrieron a los 60 días y se procedió con el análisis bromatológico para conocer su composición química de acuerdo con la metodología de la AOAC (2002).

RESULTADOS

Los resultados del análisis bromatológico al ensilado se muestran en el Cuadro 2, en el que se observa una disminución en el contenido de humedad (Hum) al agregar hojas y vainas de mezquite, 70.75% y 71.75% respectivamente en *A. salmiana*, 62.35 y 68.54% respectivamente en *A. americana*, con respecto a los tratamientos testigo (88.84% en *A. salmiana* y 80.48% en *A. americana*). Álvarez-Fuentes *et al.* (2015) reportaron un porcentaje de humedad similar al ensilar hoja de *A. salmiana* (85.12%) aunque reportan un valor diferente al encontrado en el presente estudio al ensilar *A. salmiana* y vaina de mezquite, determinando un valor de humedad de 80%, esto se

atribuye a que solo incluyeron 10% de vaina de mezquite en la mezcla, por lo tanto, el contenido de humedad tuvo una reducción menor a la reportada en este trabajo utilizando 30% de HVM

El contenido de cenizas también presenta una disminución al agregar HM y HVM en ambas especies de agave, 10.67 y 8.41% respectivamente para *A. salmiana*, 11.88 y 12.33% para *A. americana* con respecto a los tratamientos testigo (13.91% y 19.42 para *A. salmiana* y *A. americana* respectivamente). Este último valor difiere de lo reportado por Pinos-Rodríguez *et al.* (2008a y 2008b) quienes encontraron valores de 7.1 y 9.5% respectivamente en ensilado de *A. salmiana*, aunque Álvarez-Fuentes *et al.* (2015) reporta un valor de 15.4% en un ensilado de la misma especie de agave.

En cuanto los nutrientes digestibles totales (NDT), se observa una fuerte incremento al ensilar *A. salmiana* y vaina de mezquite (76.13%) con respecto al testigo (56.05%).

Cuadro 2. Composición química del ensilado de agave con hojas y vaina de mezquite

Parámetro	<i>Agave salmiana</i>			<i>Agave americana</i>		
	Testigo	HM	HVM	Testigo	HM	HVM
	(T1)	(T2)	(T3)	(T4)	(T5)	(T6)
Hum (%)	88.64	70.75	71.75	80.48	62.35	68.54
E. E. (%)	1.14	2.12	1.93	5.84	0.50	0.10
PC (%)	4.58	13.98	8.23	7.43	14.93	9.15
Cenizas (%)	13.91	10.67	8.41	19.42	11.88	12.33
FC (%)	29.75	42.39	29.09	31.97	36.00	38.02
ELN (%)	50.62	30.84	52.34	35.34	36.69	40.40
NDT (%)	56.05	57.56	76.13	58.12	55.89	54.36
ED (Mcal/kg)	2.47	2.54	3.36	2.56	2.46	2.40
EM (Mcal/kg)	2.03	2.08	2.75	2.10	2.02	1.97
pH	4.06	4.32	3.92	5.01	4.48	4.31

*HM= Hoja de mezquite; HVM= Harina de vaina de mezquite; Hum= humedad; E.E= Extracto etéreo; PC= Proteína cruda; FC= Fibra cruda; ELN= Extracto libre de nitrógeno; NDT= Nutrientes digestibles totales; ED= Energía digestible; EM= Energía metabolizable.

El contenido de proteína cruda (PC) se muestra en la Figura 1, donde se observa un incremento al agregar HM y HVM, aunque el mayor valor se alcanzó al agregar hoja de mezquite en ambas especies de agave. El tratamiento de HM y *A. americana* mostró el contenido de PC más alto (14.93%) con relación al testigo (7.43%), pero el mayor incremento se observa al ensilar *Agave salmiana* y HM (9.4%), con relación a la mezcla de *A. americana* y HM (7.5%).

Estos incrementos en el contenido de PC podrían ser aprovechados para complementar la dieta de animales como Bovinos, ovinos y caprinos, logrando una adecuada producción de carne y leche. Galaviz *et al.* (2022) lograron reducir los costos por kg de alimento utilizando una dieta con ingredientes alternativos como nopal, ensilado de *Agave salmiana* y vainas de mezquite, pasando de \$8.68.00 en una dieta convencional a \$3.31.00 con una dieta alternativa utilizando los ingredientes antes mencionados, bajando un 45% los costos de alimentación por día, sin afectar la producción de leche en cabras.

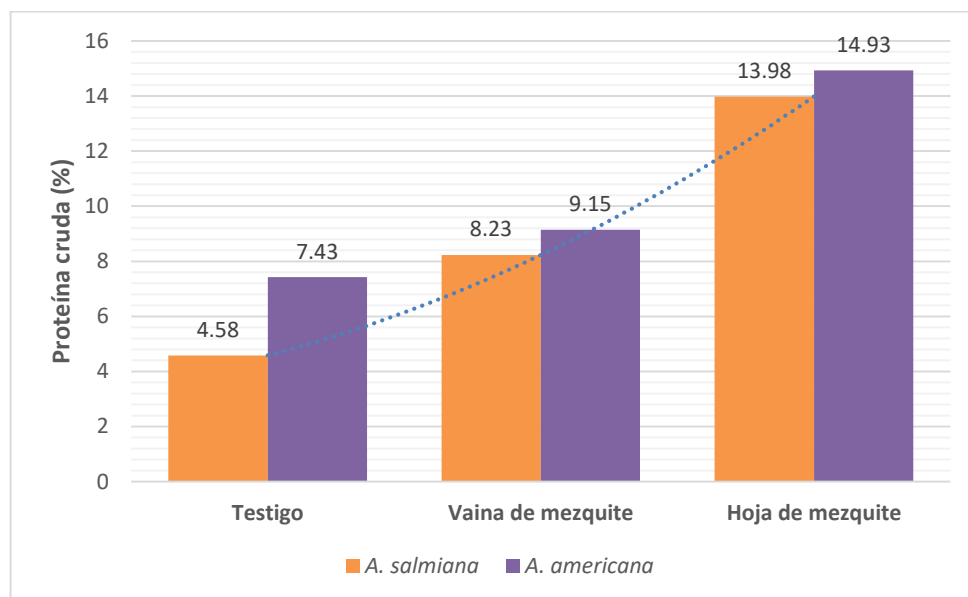


Figura 1. Incremento en el contenido de proteína cruda del ensilado de agave con hojas y vainas de mezquite.

CONCLUSIONES

La PC y EM alcanzados en este trabajo al ensilar agave con HM están en el rango de los niveles que requieren bovinos y caprinos en etapa de engorda, así como ovinos en etapa de mantenimiento, por lo cual podría utilizarse como alimento para estas especies en dichas etapas fisiológicas.

Al ensilar ambas especies de agave con HVM, la proteína alcanzada es similar a la encontrada en otros ensilados como el de maíz y sorgo, por lo que se podría utilizar como forraje en dietas, principalmente para ganado rumiante.

Se deben realizar pruebas de digestibilidad de la materia seca para tener una mayor certeza del nivel de aprovechamiento que tendrá este alimento por parte de los animales.

Es importante determinar los costos de producción de este alimento, ya que de acuerdo con estudios mencionados anteriormente, el uso en la dieta de ingredientes alternativos como nopal, ensilado de agave y vainas de mezquite, ayudan a reducir el costo por kg de alimento, lo cual tiene un impacto positivo en la economía del productor pecuario.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. Escobar, "Estrategias para la suplementación alimenticia de rumiantes en el trópico", en "Leguminosas forrajeras arbóreas en la agricultura tropical", T. Clavero, editor, Ars Gráfica S. A., Maracaibo, Venezuela, 1996, pp. 49-63.
2. A. G. Evans, "Perspectiva on the development of high-toughness ceramics", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 73, 2, 1990, pp. 187-206.
3. A. J. García, "Los agaves de México" Ciencias 87. Jardín Botánico, Instituto de Biología, UNAM, julio-septiembre, 2007, pp. 14-23.
4. A.O.A.C., "Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists", Published by the Association of Official Agricultural Chemists, 1975, Washington, D.C.
5. COMERCAM. Informe estadístico 2024. Tomado de <https://comercam-dom.org.mx/estadisticas/>. Consultado en línea el 24 de mayo de 2024.

6. CONAGUA. Monitor de Sequía de México. Tomado de <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/monitor-de-sequia/monitor-de-sequia-en-mexico>. Consultado en línea el 13 de mayo de 2024.
7. CONAZA, "Mezquite prosopis spp cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México" Instituto Nacional de Ecología, 1994.
8. CONAZA, Unidad de sequía, desertificación y proyectos especiales, 2010, Boletín divulgativo No. 2.
9. CRT. Consejo Regulador del Tequila. Datos estadísticos 2023. Tomado de <https://crt.org.mx/EstadisticasCRTweb/>. Consultado en línea el 24 de mayo de 2024.
10. D. L. Ortiz-Torres, M. Galván-Valencia, L. Delgadillo-Ruiz, J. Huerta-García, F. Cabral-Arellano, R. Bañuelos-Valenzuela, *et al.* Extracción y obtención de fracciones de saponinas a partir de hojas de los *Agaves salmiana* y *tequilana* weber de Zacatecas. XIII simposium-taller nacional y VI internacional "Producción y aprovechamiento de nopal y maguey". Escobedo, Nuevo León. 2014: 170-182.
11. D. R. Ruiz, "uso potencial de la vaina de mezquite para la alimentación de animales domésticos del altiplano potosino", Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. Agosto de 2011.
12. E. Baraza, S. Ángeles, A. García, A. Valiente-Banuet. Nuevos recursos naturales como complemento de la dieta de caprinos durante la época seca, en el Valle de Tehuacán, México. INCI., Vol. 33, 12, 2008, pp. 891-896.
13. E. García, "Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen", serie Libros Num. 6, 1998, Instituto de Geografía, UNAM.
14. E. J. García-Herrera, S. J. Méndez-Gallegos, D. Talavera-Magaña. El género *Agave spp.* en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. RESPyN :VIII Simposium-Taller Nacional y 1er Internacional "Producción y Aprovechamiento del Nopal" 2010: Ed Esp; 5:109-127.
15. E. Jiménez-Muñoz, F. Prieto-García, J. Prieto-Méndez, O. A. Acevedo-Sandoval, R. Rodríguez-Laguna. Caracterización fisicoquímica de cuatro especies de agaves con potencial en la obtención de pulpa de celulosa para la elaboración de papel. DYNA 2016; 83(197): 233-243.
16. F. Torres. Producción y calidad de biomasa de cuatro árboles forrajeros nativos del semiárido mexicano en dos sistemas de manejo. [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Suelos. 2013.
17. G. Álvarez-Fuentes, J. C. García-López, J. M. Pinos-Rodríguez, Y. Jasso-Pineda, F. M. Tristán-Patiño, R. González-Garduño. Maguey (*Agave spp.*) silage production with either alfalfa or mesquite pod meal as protein sources. J. Anim. Plant Sci., Vol. 24, 1, 2015, pp. 3714-3721.
18. G. S. González. Valor nutricional de dos Especies de Maguey, *Agave salmiana* y *Agave atrovirens* karw, forrajeras utilizadas en las zonas Áridas del Norte de México, en relación a sus características Fenológicas [tesis licenciatura]. Saltillo, Coahuila, México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN); 1994.
19. J. Buzo, R. Ávila, F. O. Bravo, 1972. "Efecto de la sustitución progresiva de sorgo por vainas de mezquite en la alimentación de ovinos", Técnica Pecuaria en México: 1972, Vol. 20, pp. 23-27
20. J. C. Galaviz, F. A. Rodríguez, J. A. Rendón, G. Álvarez, J. A. Morales, J. C. García. "Efecto de una dieta con base en vaina de mezquite, maguey y nopal sobre la producción y calidad fisicoquímica de leche de cabras Saanen", Rev. Chap. Ser. Zon. Árid., vol. 21, 1, 2022, pp. 3-12.
21. J. C. García-López, H. M. Durán-García, J. A. De-Nova, G. Álvarez-Fuentes, J. M. Pinos-Rodríguez, H. A. Lee-Rangel, S. López-Aguirre, D. Ruiz-Tavares, J. A. Rendón Huerta, J. G. Vicente-Martínez, M. Salinas-Rodríguez, "Producción y contenido nutrimental de vainas de tres variantes de mezquite (*prosopis laevigata*) en el Altiplano Potosino, México, Agrociencia, 53. 2019, pp. 821-831.
22. J. Delgado, "Valor nutricional y usos tradicionales de las especies arbóreas del municipio de Nocupétaro, Michoacán", [Tesis de licenciatura], Facultad de Medicina veterinaria y zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán, México, 2007.
23. J. M. Pinos, M. Zamudio y S. González. 2008a. The effect of plant age on the chemical composition of fresh and ensiled *Agave salmiana* leaves. S. Afr. J. Anim. Sci., Vol. 38 1, 2008^a, pp. 43-50.

24. J. M. Pinos-Rodríguez, S. González-Muñoz, B. Badillo B, J. C. García-López, J. R. Aguirre-Rivera J. R. & S. Infante. Chemical composition and ruminal *in vitro* degradation of fresh or silage of *Agave salmiana* Otto ex. Salm-Dick. J. Appl. Anim. Res., Vol. 33, 2008b, pp. 45-48.
25. J. Montañez-Soto, J. Venegas-González, M. Vivar-Vera, E. Ramos-Ramírez. Extracción, caracterización y cuantificación de los fructanos contenidos en la cabeza y en las hojas del *Agave tequilana* Weber Azul. Bio, 2011; 23, 3, pp. 199-206.
26. J. L. Montañez, J. C. Victoria, R. Flores, R. A. Vivar, "Fermentación de los fructanos de *Agave tequilana* Weber azul por *Zymomonas mobilis* y *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol", Inf. Tec., 2011; 22, 6, pp. 3-14.
27. J. R. Paredes y J. Urrutia, "Suplementación con costilla de vaca y vaina de mezquite a cabras en lactancia", INIFAP, Desplegable para productores No. 16, 2004.
28. L. A. Gómez, "Caracterización química, degradabilidad e indicadores de la fermentación ruminal *in vitro* de la hoja de mezquite (*Prosopis leavigata*) y huizache (*Acacia farnesiana*) durante dos épocas del año, para su posible uso como alternativa de suplementación de caprinos en agostaderos semiáridos", Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales. Junio 2013.
29. M. A Mata-E, M. G. Torres-C, G. Hernández-I, M. A. Cobos-P, G. Rodríguez-S, A. Luevano-L, D. R. Guzmán-G, M. M. Gámez-A. Degradability *in vitro* of *Agave mapisaga*, *Agave salmiana* var. salmiana and *Agave salmiana* var. ferox. Rev. Chap. Ser. Zon. Arid., 2011; 10: 123-129.
30. M. Cerrillo, O. López y A. Juárez. Composición química y producción de gas *in vitro* de cactáceas, arbustivas y arbóreas presentes en la dieta de caprinos en pastoreo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UJED, 2010, Durango, México.
31. M. G. Armijo-Nájera, A. Moreno-Reséndez, E. Blanco-Contreras, V. J. Borroel-García, J. L. Reyes-Carrillo, "Vaina de mezquite (*Prosopis* spp.) alimento para el ganado caprino en el semidesierto", Rev. Mex. Cienc. Agric., 2019: Vol. 10, 1, pp. 113-122.
32. M. S. Awawdeh, W. M. Hananeh, A. Y. Abdullah. Histopathological effects of alternative feedstuffs (sesame hulls and *Prosopis juliflora*) on ruminal wall in black goat kids in Jordan. J. Appl. Animal Res., Vol. 46, 1, 2018, pp. 130-133.
33. O. D. Montañez-Valdez, J. A. Reyes-Gutiérrez, A. Ley-de Coss, R. Vicente-Pérez, A. Gómez-Márquez, C. E. Guerra-Medina, "Composición química y degradación ruminal de la vaina de mezquite (*Prosopis* spp.) a diferente estado de madurez", Ecosis. Recur. Agropec., 2021: Num. Especial II, pp. 1-8.
34. P. J. Partida, V. D. Braña, S. H. Jiménez, R. F. Ríos, G. Buendía. Producción de carne ovina. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Libro técnico No. 5. 2013.
35. R. Martínez, "Evaluación de hojas y vainas de arbustivas consumidas por las cabras mediante la técnica *in vitro* de producción de gases", Centro de Investigación en ciencias agropecuarias (CICA), Universidad Autónoma del Estado de México, 2006.
36. R. Ramírez, "Nutrición de caprinos en pastoreo. ed. Trillas, 2008, UANL. México.
37. S. Reyes-Castro, "Evaluación del potencial forrajero del ensilado de *Agave tequilana* weber cv. azul enriquecido con diferentes fuentes nitrogenadas", [Tesis de doctorado], Posgrado de Biociencias, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, 2022.
38. S. Reyes-Castro, M. Valencia-Posadas, D. A. Gutiérrez-Arenas, G. M. L. Ruiz-Aguilar, A. J. Gutiérrez-Chávez, M. F. Isidró-Pérez, H. G. Nuñez-Palenius, "Uso del ensilado de *Agave tequilana* weber cv. azul en la alimentación de ovinos en crecimiento", Braz. J. Anim. Environ. Res., 2022; Vol. 5, 2, pp. 2137-2148.
39. V. A. Gómez. Digestibilidad *in vitro* de dos variedades de maguey (*Agave salmiana* y *Agave americana*) [tesis de licenciatura]. Saltillo, Coahuila: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2003.

EDITORAS

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



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.



9 786078 821440

ISBN TOMO III
BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS



9 786078 821426

ISBN OBRA COMPLETA
AVANCES CIENTÍFICOS Y
TECNOLÓGICOS EN MÉXICO I