

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/333547356>

HÁBITAT POTENCIAL DEL MARLIN NEGRO, *Istiompax indica* (CUVIER, 1832) EN EL PACÍFICO ORIENTAL. REPCA 9 Memoria

Presentation · May 2019

DOI: 10.13140/RG.2.2.14333.41449

CITATIONS

0

READS

1,999

6 authors, including:



Manuel Jorge Correia Aguiar

Universidad Autónoma de Sinaloa, Mazatlán

25 PUBLICATIONS 2 CITATIONS

SEE PROFILE



Nerea Lezama-Ochoa

National Oceanic and Atmospheric Administration

48 PUBLICATIONS 229 CITATIONS

SEE PROFILE



Martin A. Hall

Inter-American Tropical Tuna Commission

105 PUBLICATIONS 3,461 CITATIONS

SEE PROFILE



Luis Antonio Salcido-Guevara

Autonomous University of Sinaloa

23 PUBLICATIONS 71 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Keystone species and climate change in Sinaloa benthic ecosystem [View project](#)



Evaluación de la variabilidad genética y tamaños poblacionales efectivos de subpoblaciones de dos especies de tiburón martillo con estatus de conservación en el Golfo de California [View project](#)

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



9na. REUNIÓN DE ESTUDIANTES DE POSGRADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

**PROGRAMAS: MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS. MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
EN RECURSOS ACUÁTICOS.**

M E M O R I A

**Culiacán Rosales, Sinaloa; 27, 28 y 29 mayo de 2019.
Sede: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.**



DIRECTORIO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

Dr. Juan Eulogio Guerra Liera
Rector

Dr. Jesús Madueña Molina
Secretario General

MC. Manuel de Jesús Lara Salazar
Secretario de Administración y Finanzas

Dr. Mario Nieves Soto
Director General de Investigación y Posgrado

DIRECTORES DE UNIDADES ACADÉMICAS QUE INTEGRAN EL COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
MC. Jaime Eleazar Borbolla Ibarra
Director

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
Dr. Jorge Saúl Ramírez Pérez
Director

FACULTAD DE AGRONOMÍA
Dr. Jorge Fabio Inzunza Castro
Director

FACULTAD DE AGRICULTURA DEL VALLE DEL FUERTE
Dr. Juan Fernando Sánchez Portillo
Director

FACULTAD DE AGRICULTURA DEL VALLE DEL CARRIZO
Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza
Director

**COORDINADORA GENERAL DE POSGRADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

COORDINADORES DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE AGRICULTURA DEL VALLE DEL FUERTE

Dr. Gabriel Antonio Lugo García

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR

Dr. Luis Antonio Salcido Guevara

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Dr. Roberto Gastélum Luque

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Dr. Jesús José Portillo Loera

CONTENDO

CONDICIÓN VISCERAL Y BIOMINERALIZACIÓN RADULAR EN <i>Chiton articulatus</i> (MOLLUSCA: POLYPLACOPHORA) Brenda Paola Ramirez-Santana ¹ , δ , Omar Hernando Avila-Poveda ^{1,2} , Miguel Ángel Hurtado-Olivas ¹ , Diana Judith López-Peraza ¹ , Raúl Pérez-González ¹ y Gustavo Alejandro Rodríguez-Montes-de-Oca ¹	19
VARIACIÓN EN LOS RASGOS REPRODUCTIVOS DE DOS POBLACIONES DE <i>Chiton articulatus</i> (MOLLUSCA: POLYPLACOPHORA) EN LOCALIDADES FRONTERA DE SU DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Isis Laura Alvarez-García ¹ , δ , Omar Hernando Avila-Poveda ^{1,2} , Marcial Arellano-Martínez ³ , Guillermo Rodríguez-Domínguez, Quetzalli Yasu Abadía-Chanona ¹	25
EVALUACIÓN DE CUATRO PROGRAMAS NUTRIMENTALES EN DOS CULTIVARES INDUSTRIALES DE PAPA (<i>Solanum tuberosum</i> L.) Luis Andrés Beltrán Lucas ^{1*} , Gabriel Antonio Lugo-García ¹ , Jorge Luis Flores Sánchez ² , Carlos Patricio Saucedo Acosta ¹ , Anastacio Pérez Mayorquín ¹	30
CALIDAD DE LUZ EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL PEPINO Y SUS PATÓGENOS FUNGOSOS Norma Delia Zazueta Torres ¹ , Felipe Ayala Tafoya ² , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ² , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² , Tomas Díaz Valdés ²	42
MERCURIO TOTAL EN CAMARÓN SILVESTRE DE LA ZONA COSTERA DEL NOROESTE DE MÉXICO: EVALUACIÓN DEL RIESGO A LA SALUD HUMANA Alejandra Sánchez Betancourt ¹ , Martín Gabriel Frías Espericueta ² , Carolina Delgado Alvarez ³ , Jorge Ricardo Ruelas Inzunza ⁴ , Ofelia Escobar Sánchez ² , Carmen Cristina Osuna Martinez ²	54
ROTACIÓN DE CULTIVOS Y PRÁCTICAS DE LABRANZA SOBRE CARACTERÍSTICAS DEL SUELO Y RENDIMIENTO DE TRIGO EN EL TRÓPICO SECO Alberto Borbón Gracia ¹ , Gabriel Antonio Lugo García ¹	67
EDAD Y CRECIMIENTO EN LANGOSTA <i>Panulirus gracilis</i> (CRUSTACEA, DECAPODA) POR MEDIO DE ESTRUCTURAS CALCIFICADAS. Jennifer Zoe Borrego Durán ¹ , Raúl Pérez González ² , Evlin Aidee Ramírez Félix ³ , Emigdio Marín Enriquez ⁴ , Juan Francisco Arzola González ⁵ y Jorge Payán Alejo ⁶	73
VALORACIÓN DE INDICADORES RELACIONADOS AL BIENESTAR EN BOVINOS PRODUCTORES DE CARNE EN EL TRÓPICO SECO Ana Citlaly Zazueta Gutiérrez, Francisco Gerardo Ríos Rincon, Jesús David Urías Estrada, Alfredo Estrada Angulo, Jesús José Portillo Loera, Beatriz Isabel Castro Pérez	79
IDENTIFICACIÓN DE <i>FUSARIUM</i> SPP. ASOCIADAS A LA PUDRICIÓN BASAL EN CEBOLLA EN SINALOA, MÉXICO Martin Abraham Tirado Ramirez ^{✉1} , Carlos Alfonso López Orona ^{✉2} , Tomás Díaz Valdés ² , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² , Sixto Velarde Félix ² , Ángel Roberto Martínez Campos ³	85
CONCENTRACIONES DE CADMIO (Cd), COBRE (Cu), PLOMO (Pb) Y ZINC (Zn) EN TEJIDOS DE LA JAIBA <i>Callinectes arcuatus</i> DE LOS SISTEMAS LAGUNARES SANTA MARÍA-LA REFORMA, ESTERO DE URÍAS Y HUIZACHE-CAIMANERO, SINALOA Nancy Lorena Garzón Raygoza (1), Dra. Carmen Cristina Osuna Martínez ⁽¹⁾ , Dra. Magdalena	

Elizabeth Bergés Tiznado ⁽²⁾ , Dra. Carolina Guadalupe Delgado Alvarez ⁽²⁾ , Dra. Ofelia Escobar Sánchez ⁽¹⁾ , Dr. Martín Gabriel Frías Espericueta ⁽¹⁾	96
RELACIÓN ENTRE LA NUTRICIÓN EN TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i>) Y LA SEVERIDAD DE LA FUSARIOSIS VASCULAR Daniel Mendoza Medrano ¹ , Carlos Alfonso López Orona ² , Tomás Díaz Valdés ² , Teresa De Jesús Velázquez Alcaraz ² , Guadalupe Alfonso López Urquidez ² , Ángel Roberto Martínez Campos ³	102
FLUJOS DE NUTRIENTES Y METABOLISMO NETO ENTRE UNA LAGUNA COSTERA PRÍSTINA Y UNA RECEPTORA DE EFLUENTES CAMARONÍCOLAS Julio Medina-Galván ¹ , Carmen Cristina Osuna Martínez ² , José Alfredo Arreola-Lizárraga ³ , Rafael Solís-Ibarra ² , Ramón Héctor Barraza-Guardado ⁴ , Martín Gabriel Frías-Espericueta ²	109
EFFECTOS DE LOS NIVELES DE PROTEINA EN LA RESPUESTA DE ENZIMAS METABOLICAS Y DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE EN <i>Oreochromis sp</i> IBQ. Edgar Germán Gómez Ávila ¹ , Dra. María Isaura Bañuelos Vargas ¹ , Dr. Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca ¹ , Dra. Crisantema Hernández González ² , Dr. José Cristóbal Román Reyes ¹ , Dr. Martín Gabriel Frías Espericueta ¹	121
CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA IN SITU DE POBLACIONES DE MAÍCES NATIVOS EN CONCORDIA, SINALOA, MÉXICO Valeria Gómez-Pérez ¹ , Pedro Sánchez-Peña ¹ , Teresa de Jesús Velázquez-Alcaraz ¹ , Saúl Parra-Terraza ¹ , Libia Iris Trejo-Téllez ² .	127
EFFECTO DEL TIPO DE SOMBRA Y DENSIDAD EN CORRAL SOBRE INDICADORES DE BIENESTAR DE BOVINOS EN FINALIZACIÓN INTENSIVA Ana Mireya Romo Valdez	134
ESTRUCTURA FORESTAL Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DEL MANGLAR EN EL CANAL DE CUAUTLA, RESERVA DE LA BIÓSFERA MARISMAS NACIONALES, NAYARIT Brenda Elicet Giles Miranda ^{1,2} , Mercedes Marlenne Manzano Sarabia ² , Jorge López Portillo ³ , Joanna Acosta Velázquez ⁴ , Francisco Flores Cárdenas ²	148
ALTERNATIVAS SUSTENTABLES PARA EL MANEJO DEL GUSANO DE LA CÁPSULA <i>Heliothis virescens</i> (Fabricius) EN GARBANZO (<i>Cicer arietinum</i> L.). Arturo Rafael Armenta López ¹ , Gabriel Antonio Lugo-García ¹ , Juan Fernando Sánchez Portillo ¹ , Víctor Gabriel Almada Ruíz ¹ . Maestría en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte.....	154
EFFECTO DE LOS NUTRIENTES MAYORITARIOS DEL MEDIO F EN LA COMPOSICIÓN PROXIMAL DE <i>Thalassiosira weissflogii</i> Mario Martin Peraza Yee ¹ , Mario Nieves Soto ¹ , Otoniel Carranza Díaz ¹ , Pablo Piña Valdez ¹ , Miguel Ángel Hurtado Oliva ¹ y Jesús Roberto Millán Almaraz ²	160
CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN PROXIMAL DE CUATRO ESPECIES DE MICROALGAS UTILIZADAS EN ACUICULTURA Martha Irene Millán Almaraz ¹ , Mario Nieves Soto ¹ , Diana Judith López Peraza ¹ , José Ángel López Valenzuela ² , Martha Elisa Rivas Vega ³ y Anselmo Miranda Baeza ³	172
EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA FORESTAL Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE LOS MANGLARES EN BOCA DE CAMICHÍN, MARISMAS NACIONALES María Luisa Ordoñez Rosas ^{1,2} , Mercedes Marlenne Manzano Sarabia ² , Francisco Flores Cárdenas ² , Joanna Acosta Velázquez ³ , Lidia Esther Rodríguez Arredondo ²	182

CALIDAD DE LUZ EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL PEPINO Y SUS PATÓGENOS FUNGOSOS Norma Delia Zazueta Torres ¹ , Felipe Ayala Tafoya ² , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ² , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² , Tomas Díaz Valdés ² , Carlos Alfonso López Orona ²	189
PREVALENCIA DE Salmonella Y SU ASOCIACIÓN AL ESTADO DE BIENESTAR DEL CERDO, EN GRANJAS UBICADAS EN EL CENTRO DE SINALOA Velázquez Valdez Diana Zuleika ¹ , Silva Hidalgo Gabriela ² , López Valenzuela Martín ³ , Romo Rubio Javier Alonso ⁴ , Dávila Ramos Horacio ⁴ , Cárcamo Aréchiga Nora María ⁴ , María de Lourdes Alonso Spilsbury ⁵	201
PARTENOCARPIA, FITORREGULADORES SINTÉTICOS Y VERMICOMPOSTA, EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE CALABACITA DE INVERNADERO Leonardo Román Román, Felipe Ayala Tafoya, Tomás Díaz Valdés, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz, Carlos Alfonso López Orona y Juan Martín Parra Delgado.	210
TEMPERATURA Y PRESIÓN OSMÓTICA DEL CRECIMIENTO in vitro DE Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Kynzú Berenice Castro Valdez ¹ , Carlos Alfonso López Orona ² , Mitzi Dayanira Estrada Acosta ² , Tomás Díaz Valdés ² , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² y Felipe Ayala Tafoya ²	219
NUTRICIÓN CON N,P,K Y BIOESTIMULANTES EN LA PRODUCCIÓN DE CHILE JALAPEÑO (Capsicum annum L.) EN EL NORTE DE SINALOA Salomón Buelna Tarín, Gabriel Antonio Lugo García ¹ , Bardo Heleodoro Sánchez Soto ¹ y Celia Selene Romero Félix ¹	228
IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE <i>Neopestalotiopsis</i> spp. AGENTE CAUSAL DE LA MANCHA PLATEADA DEL MANGO Saida Selene Gerardo Lugo ¹ , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ¹ , Hugo Beltrán Peña ² , Juan Manuel Tovar Pedraza ³ , Miguel Ángel Apodaca Sánchez ² , Felipe Ayala Tafoya ¹ . Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía.	234
ESPECIES DE PICUDOS (COLÉOPTERA: CURCULIONIDAE) DEL NORTE DE SINALOA, MÉXICO Cynthia Guadalupe Lugo-García ¹ , Bardo H. Sánchez-Soto ¹ , Juan Fernando Sánchez-Portillo ¹ , Álvaro Reyes-Olivas ¹ y Víctor Alfonso Cuate-Mozo ¹	241
FITOTOXICIDAD Y ABSORCIÓN DE OXITETRACICLINA EN SAUCE NEGRO Salix nigra. Paloma Alvarez Tostado Rios ¹ , Dr. Otoniel Carranza Díaz ¹ . Dra. Carmen Osuna Martinez ¹ . Dr. Víctor Manuel Valenzuela Jiménez ¹ , Dra. Mercedes Marlenne Manzano Sarabia ¹ , Dr. Víctor Manuel Luna Pabellon ² . Maestría en ciencias en recursos acuáticos. Facultad de ciencias Del mar.	246
CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA IN SITU DE POBLACIONES DE MAÍCES NATIVOS EN CONCORDIA, SINALOA, MÉXICO Valeria Gómez-Pérez ¹ , Pedro Sánchez-Peña ¹ , Teresa de Jesús Velázquez-Alcaraz ¹ , Saúl Parra-Terraza ¹ , Orlando Omer Linares-Holguín ¹ , Libia Iris Trejo-Téllez ²	257
VALORACIÓN DEL PROCESO DE SACRIFICIO DE BOVINOS MEDIANTE INDICADORES DE BIENESTAR ANIMAL EN CULIACÁN, SINALOA Jaime Noé Sánchez Pérez ¹ , Horacio Dávila Ramos ¹ , Juan Carlos Robles Estrada ¹ , Francisco Gerardo Ríos Rincón ¹ , Jesús José Portillo Loera ¹	264

IDENTIFICACIÓN DE <i>Chlamydia abortus</i> EN RUMIANTES DEL ESTADO DE SINALOA Rebeca Castro Flores ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Efrén Díaz Aparicio ² , Idalia Enríquez Verdugo ¹	274
UTILIZACIÓN DE EXTRACTO DE TANINOS EN LA DISMINUCIÓN DE PRODUCCIÓN DE GAS Y COMPUESTOS ASOCIADOS CON LOS OLORES EN LAS HECES DE BOVINOS EN ENGORDA Eva Xitlalic Murillo Ayala ¹ , Rubén Barajas Cruz ¹ , Javier Alonso Romo Rubio ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ . Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa ¹ . xitla.muri@gmail.com.....	282
PREVALENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE CONTUSIONES EN LA CANAL DE BOVINOS SACRIFICADOS EN UN RASTRO DE CULIACÁN, SINALOA Briseyda Jatzel Félix Leyva 1, Horacio Dávila Ramos ¹ , Juan Carlos Robles Estrada ¹ , Francisco Gerardo Ríos Rincón ¹ , José Adrián Félix Beltrán ¹	289
CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE <i>Fusarium</i> spp. CAUSANTE DE LA MALFORMACIÓN EN MANGO (<i>Mangifera indica</i> L.) EN SINALOA Lorena Molina Cárdenas ¹ , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² , Carlos Alfonso López Orona ² , Sixto Velarde Félix ³ , Felipe Ayala Tafoya ² , Guadalupe Alfonso López Urquídez ²	298
MONITOREO DE METALES PESADOS EN EL OSTIÓN <i>Crassostrea corteziensis</i> , EN SISTEMAS LAGUNARES DEL CENTRO-NORTE DE SINALOA Carlos Humberto Sepúlveda ¹ , Carmen Cristina Osuna Martínez ² , Andrés Martín Góngora Gómez ³ , Manuel García Ulloa Gómez ³	308
EVALUACIÓN POBLACIONAL DE LA MERLUZA DEL PACÍFICO <i>Merluccius productus</i> (AYRES, 1855) EN EL GOLFO DE CALIFORNIA Eduardo Alvarez Trasviña Eduardo Alvarez Trasviña ¹ , Luis Antonio Salcido Guevara ¹ , Dana Isela Arizmendi Rodríguez ² , Rebeca Sánchez Cárdenas ¹ , Guillermo Rodríguez Domínguez ¹ , Hugo Arancibia Farías ³	316
CARACTERIZACIÓN DE <i>Anaplasma phagocytophilum</i> EN EQUINOS DE DEPORTE Y ESPECTÁCULO EN CULIACÁN, SINALOA Francisca Zatarain Irigoyen, Idalia Enríquez Verdugo, Nohemí Castro Del campo, Soila Maribel Gaxiola Camacho, Carlos Vladimir López Aispuro, Christian Urías Castro.	322
BIOMASA DE LA SARDINA CRINUDA <i>Opisthonema libertate</i> , <i>O. medirastre</i> y <i>O. buller</i> EN EL SUR DEL GOLFO DE CALIFORNIA Jorge Payán-Alejo ¹	329
MICROPROPAGACIÓN, ESTABLECIMIENTO Y DESARROLLO EN CAMPO DE COSAHUI DEL SUR (<i>Krameria erecta</i> W.) EN EL ESTADO DE SONORA Diana Miriam Mc Caughey Espinoza ¹ , Álvaro Reyes Olivas ¹ , Gloria Irma Ayala Astorga ² , Gabriel Antonio Lugo García ¹ , Andrés Ochoa Mesa ³ y Antonio Pacheco Olvera ⁴	339
EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CAMARÓN CAFÉ <i>Penaeus californiensis</i> EN BAHÍA Y PLATAFORMA CONTINENTAL EN NAVACHISTE, SINALOA, UTILIZANDO UN ENFOQUE MULTIMODELO. LBP. Luis Adán Félix Salazar ¹ , Dr. Guillermo Rodríguez Dominguez ¹ , Dr. Wenceslao Valenzuela Quiñonez ² . Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar.....	345
DOSIS ÓPTIMA DE SUPLEMENTACIÓN DEL AGONISTA ADRENÉRGICO-BETA CLORHIDRATO DE ZILPATEROL (GROFACTOR®) Y RESPUESTAS BIOLÓGICAS ASOCIADAS EN OVINOS DE PELO Arnulfo Vicente-Pérez ¹ , Rubén Barajas-Cruz ¹ , Leonel	

Avendaño-Reyes ² , Juan Eulogio Guerra-Liera ³ , Miguel Ángel Gastelum-Delgado ³ , Ulises Macias-Cruz ²	357
POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DE MALEZA DEL VALLE DEL FUERTE Victor Gabriel Almada Ruiz ^{1*} , Álvaro Reyes Olivas ¹ , Gabriel Antonio Lugo García ¹ , Bardo Heleodoro Sánchez Soto ¹ . Doctorado en Ciencias Agropecuarias. ¹ Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. *almadaruiz@yahoo.com.mx.....	369
ANÁLISIS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE TIBURONES Y RAYAS DE IMPORTANCIA COMERCIAL EN EL GOLFO DE CALIFORNIA Tania Guadalupe Romero Leyva ¹ , Emigdio Marín Enríquez ¹ , David Corro Espinosa ² . Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias del Mar.	376
INDICADORES CONDUCTUALES ASOCIADOS AL BIENESTAR DE GANADO BOVINO DE RECIENTE ARRIBO AL CORRAL DE ENGORDA Alma Carolina Calderón Alonso.....	382
MADUREZ TECNOLÓGICA Y FENÓLICA EN VID CV. TEMPRANILLO EN TRES SITIOS DE SIEMBRA Cipriano Fuentes Verdusco	388
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES, GENOTIPOS Y SUBTIPOS DE <i>Cryptosporidium</i> spp EN BOVINOS Y AGUA SUPERFICIAL EN CULIACÁN, SINALOA. Claudia Berenice De Dios Quiñonez ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Nohemi Castro del Campo ¹ , Miguel Angel Rodriguez Gaxiola ¹ , Nohelia Castro del Campo ²	400
RELACIÓN GENÉTICA DE <i>Babesia</i> spp EN SANGRE DE HUMANOS, PERROS Y <i>Rhipicephalus sanguineus</i> Y PROBABLE FUENTE DE INFECCIÓN Natalia Heredia Burgos ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Luis Tinoco Gracia ² , Nohemí Castro del Campo ¹ , Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola ¹	406
PRODUCCIÓN, ASIMILACIÓN Y CARGA AMBIENTAL DE FÓSFORO (P): MONOCULTIVO DE CAMARÓN vs CULTIVO ACUAPÓNICO CAMARÓN-ALBAHACA Suammy Gabriela Alarcón Silvas ¹ , Carmen Cristina Osuna Martínez ² , Federico Páez Osuna ³ , Jesús Armando León Cañedo ⁴ , Juan Francisco Fierro Sañudo ⁴	415
CICLO REPRODUCTIVO DE LA ALMEJA PATA DE MULA <i>Larkina grandis</i> , EN EL ESTERO EL COHUI, GUASAVE, SINALOA Maria Isabel Sotelo-Gonzalez ¹ , Rebeca Sanchez Cardenas ² , Manuel García-Ulloa ³ , Andrés Martín Góngora-Gómez ³ , Luis Antonio Salcido Guevara ² , Juan Francisco Arzola Gonzalez ² , Carlos Humberto Sepúlveda ¹	426
INFLUENCIA DEL TIPO DE SOMBRA SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE BOVINOS EN FINALIZACIÓN EN ALTAS TEMPERATURAS CLIMÁTICAS Ilse Anahi Medina Armenta ¹ , Beatriz Isabel Castro Pérez ² , Francisco Gerardo Ríos Rincón ² , Alejandro Plascencia Jorquera ³ , Alfredo Estrada Angulo ² , Carlos Raúl Rivera Méndez ⁴	435
FLORA Y VEGETACIÓN DE LA PLANICIE Y ARROYO EL AGUAJE DE LA SIERRA DE BAROBAMPO, MUNICIPIO DE AHOME, SINALOA, MÉXICO. Juan Gaxiola Félix ¹ , Álvaro Reyes Olivas ² , Bardo Heleodoro Sánchez Soto ³ , Rito Vega Aviña ⁴ , Pedro Casillas Alvarez ³	448
EVALUACIÓN DE LA COMUNIDAD BACTERIANA PRESENTE EN EL HÍBRIDO DE TILAPIA ROJA <i>Oreochromis</i> sp. CULTIVADOS EN AGUA DE MAR CON BIOFLOCS Y PROBIÓTICOS. Jesús Antonio Álvarez Cantú ^{1*} , Irasema Elizabeth Luis Villaseñor ¹ , María	

Isaura Bañuelos Vargas ¹ , María del Rosario Pacheco Marges ¹ , Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de oca ¹ , Ana María Rivas Montañó ² , Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias de Mar.....	457
PSÍLIDOS (HEMIPTERA: PSYLLOIDEA) DE LA REGIÓN NORTE DEL ESTADO DE SINALOA, MÉXICO Arturo González Alfaro ¹ , Gabriel A. Lugo-García ¹ , Laura D. Ortega-Arenas ² Álvaro Reyes-Olivas ¹ , Juan Fernando Sánchez-Portillo ¹	467
EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE SALMONELLA ENTERICA ENTERICA IN VITRO Abril Corona Cárdenas ¹ , Gabriela Silva Hidalgo ² , Héctor Samuel López Moreno ³ , Vianney Francisco Ortíz Navarrete ⁴ , Nora María Cárcamo Aréchiga ²	476
IDENTIFICACIÓN, DETERMINACIÓN DE PATOGENICIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE OOMYCETES PROVENIENTES DE AGUA SUPERFICIAL DE RÍOS Y CANALES Josué Cárdenas Rodríguez ¹ , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ² , Carlos Alfonso López Orona ³ , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ⁴ , Felipe Ayala Tafoya ⁴ . Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía.	482
Colecta de aislados.....	484
BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A <i>Anthonomus eugenii</i> EN GENOTIPOS SILVESTRES Y CRIOLLOS DE <i>Capsicum</i> spp. Walter Arturo Rubio-Aragón ^{1*} , Carlos Alfonso López-Orona ² , Jesús Enrique Retes-Manjarrez ³ , Miguel López-Meza ² , Jacobo Enrique Cruz-Ortega ² , Fabián Avendaño-Meza ²	489
DETERMINACIÓN DE ANTIBIOSIS EN GENOTIPOS DE SORGHUM BICOLOR SOBRE MELANAPHIS SACCHARI (ZEHNTER) María Alejandra Payán Arzapalo	499
PRODUCCIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEICOS DE MÚSCULO DE SARDINA CRINUDA (<i>Opisthonema libertate</i>) CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES Jorge Manuel Sandoval Gallardo ¹ , Jorge Saul Ramírez Pérez ² , Jesús Aarón Salazar Leyva ³ , Crisantema Hernández González ⁴ , Miguel Ángel Hurtado Olivas ² y Ángel Valdez Ortíz ⁵	512
PREVALENCIA DE <i>Salmonella</i> spp. DURANTE EL CICLO PRODUCTIVO, TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE CERDOS EN RASTRO PROCEDENTES DE GRANJA EN CULIACÁN, SINALOA Alberto Garfio Romero ¹ , Gabriela Silva Hidalgo ¹ , Felipe Juárez Barranco ¹ , Héctor Samuel López Moreno ² , José Guadalupe Rendón Maldonado ² . Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa, ¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, agarfio571@gmail.com, ² Facultad de Ciencias Químico-Biológicas.	524
CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y CORTES PRIMARIOS DE OVINOS FINALIZADOS CON DIETAS ADICIONADAS DE ACEITES ESENCIALES Jessica Berenice Zúñiga Villegas	533
HIDROLIZADOS PROTEÍCOS DE MÚSCULO DE <i>Bagre panamensis</i> USANDO PROTEASAS INTESTINALES Y ALCALASA Gissel Daniela Rios Herrera ¹ , Jorge Saul Ramírez Pérez ² , Jesús Aarón Salazar Leyva ³ , Crisantema Hernández González ⁴ , Laura Rebeca Jiménez Gutiérrez ² y Ángel Valdez Ortíz ⁵	539
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE PIOJOS DEL GÉNERO <i>LINOGNATHUS</i> PRESENTES EN CAPRINOS. Zatarain DE ^{1*} , Enríquez VI ¹ , Castro del CN ¹ , López ACV ¹ , Gaxiola CSM ¹	551

Estatus poblacional DEI CAMARÓN AZUL <i>Penaeus stylirostris</i> (Stimpson, 1871), en la COSTA DE Sinaloa, México Yanira Leyva Vázquez ¹ , Juan Francisco Arzola González ² , Gilberto Genaro Ortega Lizárraga ³ . GUILLERMO RODRÍGUEZ DOMÍNGUEZ ² , JORGE SAÚL RAMÍREZ PEREZ ² y EUGENIO ALBERTO ARAGÓN NORIEGA ⁴	556
RESPUESTA INMUNE DE JUVENILES DE <i>Crassostrea gigas</i> BAJO CONDICIÓN DE ESTRÉS POR pH Y EN PRESENCIA DE <i>Vibrio harveyi</i> Paola B. Arce Romero ¹ , Irasema E. Luis Villaseñor ¹ , Francisco. A. Flores Higuera, Martin G. Frías Espericueta ¹ , Nancy C. Saavedra Sotelo ² , José L. Carballo Cenizo ² ,.....	561
EVALUACIÓN SOCIOECOLÓGICA DE LA PESCA RIBEREÑA DE PLAYA NORTE, MAZATLÁN SINALOA, ORIENTADA AL CO-MANEJO PESQUERO. María de los Ángeles Lugo Manzano ¹ , Jorge Saúl Ramírez Pérez ¹ , Adreissa Lizette Páez Michel ² , Rebeca Sánchez Cárdenas ¹ , María de los Ángeles Maldonado Amparo ¹ y Ramón Ismael Alvarado Vázquez ³	570
EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN INDIVIDUAL O COMBINADA DE EUBIÓTICOS EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y DIGESTIÓN TOTAL EN OVINOS Octavio Zapata Ramírez.....	576
EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG Y GNRH-ANÁLOGO EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE CERDAS DESTETADAS BAJO CONDICIONES DE ALTA CARGA CALÓRICA Anabel Paixao Guzman ¹⁺ , Javier Alonso Romo Rubio ²⁺ , Jesús José Portillo Loera ^{3*} , Christian de Jesús Urías Castro ^{4*} , Juan Manuel Romo Valdez ^{4*} , Héctor Raúl Guemez Gaxiola ^{4*}	587
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA-GENOTÍPICA Y POTENCIAL PATOGENICO DE ESPECIES DE <i>Fusarium</i> spp. EN MAÍZ (<i>Zea mays</i>) ALAN DOURIET ANGULO ¹ , CARLOS ALFONSO LOPEZ ORONA ² , GUADALUPE LOPEZ URQUIDEZ ² , MITZI DEYANIRA ESTRADA ACOSTA ² , FELIPE AYALA TAFOYA ² , TOMAS DÍAZ VALDÉS ²	592
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA-GENOTÍPICA Y POTENCIAL PATOGENICO DE ESPECIES DE <i>Fusarium</i> spp. EN MAÍZ (<i>Zea mays</i>) ALAN DOURIET ANGULO ¹ , CARLOS ALFONSO LOPEZ ORONA ² , GUADALUPE LOPEZ URQUIDEZ ² , MITZI DEYANIRA ESTRADA ACOSTA ² , FELIPE AYALA TAFOYA ² , TOMAS DÍAZ VALDÉS ²	604
VARIABLES QUE DETERMINAN LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS PARALIZANTES EN <i>Alexandrium ostenfeldii</i> Y SUS MECANISMOS DE SÍNTESIS Sonia Jeanette Delgado Del Villar ^{1*} , Laura Rebeca Jiménez Gutierrez ¹ , Rosalba Alonso Rodríguez ²	616
COMPOSTAS ENRIQUECIDAS CON <i>Bacillus</i> spp. Y <i>Trichoderma</i> spp. EN EL CONTROL DE RABIA EN GARBANZO BLANCO (<i>Cicer arietinum</i> L.) Julián Alberto Galaviz Lara ¹ , Pedro Sánchez Peña ² , Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez ¹ , Saúl Parra Terraza ² , Blanca Elvira López Valenzuela ³ . Maestría en ciencias agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa-, 1 Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Unidad Sinaloa, 2 Facultad de Agronomía de Culiacán. 3Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. juliangl1486@hotmail.com.....	622
FISIOLOGÍA DIGESTIVA DE JUVENILES DE TILAPIA ROJA (<i>Oreochromis</i> sp.) CULTIVADOS EN AGUA MARINA CON BIOFLOC Y PROBIÓTICOS. Ángel de Jesús Sánchez Ramírez ¹ , Dr. Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca ² , Dra. María Isaura Bañuelos Vargas ² , Dr. Emmanuel Martínez Montañó ³ , Dra. María del Rosario Pacheco Marges ² , Dr. Otoniel Carranza Díaz ²	634

CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA IN SITU DE POBLACIONES DE MAÍCES NATIVOS EN CONCORDIA, SINALOA, MÉXICO. Valeria Gómez-Pérez ¹ , Pedro Sánchez-Peña ¹ , Teresa de Jesús Velázquez-Alcaraz ¹ , Saúl Parra-Terraza ¹ , Orlando Omer Linares-Holguín ¹ , Libia Iris Trejo-Téllez ²	646
IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE <i>Theileria</i> spp Y <i>Babesia</i> spp EN PEQUEÑOS RUMIANTES EN CULIACÁN, SINALOA. Lucila Guillermina Beltrán Vega ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Jaime Eleazar Borbolla Ibarra ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Vicente Olimón Andalón ²	653
EVALUACIÓN ESPACIO TEMPORAL DE LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES EN UN DREN URBANO CON VEGETACIÓN EN LA CD. DE MAZATLÁN, SINALOA. Juan Eduardo Guzmán Ibarra ¹ , Director de tesis: Dr. Otoniel Carranza Díaz ² , Asesores: Dra. Carmen Cristina Osuna Martínez ² , M.C. Iliana Hetzabet Zazueta Ojeda ² , M.C. María Alejandra Medina Jasso ² , Dr. Víctor Manuel Luna Pabello ³ Programa Maestría en ciencias en recursos acuáticos, ¹ Facultad de Ciencias del Mar, UAS. Email: juangzm94@gmail.com ² Universidad Autónoma de Sinaloa – Facultad de Ciencias del Mar ³ Universidad Nacional Autónoma de México - Facultad de Química.....	660
HONGOS DEL SUELO ASOCIADOS A LA MARCHITEZ DEL TOMATILLO (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) EN EL NORTE DE SINALOA. Quintín Armando Ayala Armenta ¹ , Hugo Beltrán Peña ¹ , Miguel Ángel Apodaca Sánchez ¹ , Juan Manuel Tovar Pedraza ² , Carlos Patricio Saucedo Acosta ¹	665
RELACIÓN DE LAS VARIABLES AMBIENTALES Y DE MANEJO CON LA PRESENCIA DE PARÁSITOS MONOGENÉOS Y TRICODINIDOS EN LA TILAPIA DEL NILO <i>Oreochromis niloticus</i> CULTIVADAS EN GRANJAS DE OAXACA, GUERRERO Y CHIAPAS Juan Manuel Osuna Cabanillas ¹ , Juan Francisco Arzola González ² , Emma Josefina Fajer Ávila ³ , Francisco Neptalí Morales Serna ⁴ , María del Rosario Pacheco Marges ⁵ y Emigdio Marín Enriquez ⁶	679
EVALUACIÓN DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS PARA REDUCIR <i>Salmonella</i> spp Y <i>Escherichia coli</i> O157:H7 EN EL TÉ DE COMPOSTA.] Martha Lidia Gutiérrez Pérez ¹ , PEDRO SÁNCHEZ PEÑA ² , NOHELIA CASTRO DEL CAMPO ³ , RAYMUNDO MEDINA LÓPEZ ² , SIXTO VELARDE FÉLIX ⁴	685
RESISTENCIA E IMPACTO DE DOS ANTIHELMÍNTICOS EN CABRAS DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN EN ZONAS SEMI-ÁRIDAS DEL NORESTE DE MÉXICO Raquel Olivas-Salazar ^{1,2} , Alfredo Estrada-Angulo ¹ , Miguel Mellado Bosque ² , Armando Jacinto Aguilar-Caballero ³ , Beatriz Isabel Castro-Pérez ¹ , Fernando Ruiz-Zárate ²	696
TRANSCRIPTÓMICA DE TEJIDOS DEL CAMARÓN BLANCO <i>Peneaeus vannamei</i> Y SU USO COMO MARCADORES REPRODUCTIVOS. L.B.P. Jorge Luis Lizárraga Rodríguez.	711
DESARROLLO GONÁDICO DE LA SARDINA CRINUDA (<i>Opisthonema</i> spp) DEL SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO Diana Laura Cervantes-Rendón ^{1,2} , Rebeca Sánchez-Cárdenas ² , Mercedes Laura Jacob-Cervantes ³ , Eber Enrique Orozco-Guillen ⁴ , Jorge Saúl Ramírez-Pérez ² , Luis Antonio Salcido-Guevara ²	717

DESARROLLO LARVAL DE LA JAIBA <i>Callinectes arcuatus</i> ORDWAY 1863 EN CONDICIONES DE LABORATORIO. Irma Vargas Téllez ¹ , Juan Francisco Arzola González ¹ Genaro Diarte Plata ²	724
Modelación de las preferencias ambientales de marlín aguja corta <i>Tetrapturus angustirostris</i> del océano Pacífico oriental. Gerónimo Jacobo Gilberto De La Vega Casillas, Emigdio Marín Enriquez, Victor Cruz Escalona, Jorge Saúl Ramirez Perez, Raúl Pérez Gonzalez, Mercedes Marlenne Manzano Sarabia.....	730
ASPECTOS POBLACIONALES DE LOS CRUSTÁCEOS BRAQUIUROS ASOCIADOS A LA PESCA DE LANGOSTA EN LA BAHÍA DE MAZATLÁN, SINALOA José Abraham Gastélum Barrios	735
FLUENSULFONE, FLUOPYRAM Y ABAMECTINA PARA EL MANEJO DE <i>Meloidogyne</i> spp. EN EL CULTIVO DE TOMATE. Ricardo Castro López ¹ , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ² , Tirzo Paúl Godoy Angulo ² , Roberto Gastélum Luque ² , Juan Eulogio Guerra Liera ² , Jorge Fabio Inzunza Castro ² , Idalia Enríquez Verdugo ³	741
CARACTERIZACIÓN DE LA CANAL Y LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA CARNE DE EQUINOS CUARTO DE MILLA DE DESCARTE CHARACTERIZATION OF THE CARCASS AND THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF MEAT THE DISCARD QUARTER HORSES Felipe de Jesus Gamboa del Real ¹ , Beatriz Isabel Castro Pérez ² , Octavio Carrillo Muro ³ , Alfredo Estrada Angulo ² , German Contreras Pérez ² , Jairo Iván Aguilera Soto ³	752
EFFECTO DE UNA MEZCLA ESTANDARIZADA DE ADITIVOS NATURALES SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE OVINOS EN FINALIZACIÓN Víctor Hugo Núñez Benítez ¹ , Beatriz Isabel Castro Pérez ¹ , Alejandro Plascencia Jorquere ² , Alfredo Estrada Angulo ² , María Alejandra López Soto ² , Carlos Raúl Rivera Méndez ³	763
CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS, ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE MAÍCES (<i>Zea mays</i>) NATIVOS DE SINALOA SOMETIDOS A ESTRÉS HÍDRICO. Villa Bojorquez Jaime , ¹ Sanchez Peña Pedro, ² Basilio Heredia José, ² Osuna Enciso Tomás, ¹ Parra Terraza Saúl	772
RESISTENCIA A <i>Bemisia tabaci</i> Genn. EN TOMATE SILVESTRE Y CRIOLLO Millán-Chaidez, Reynaldo ¹ ; Retes-Manjarrez, Jesús Enrique ¹ , Garzón-Tiznado, José Antonio ² ...	782
RESPUESTA PRODUCTIVA, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y CORTES PRIMARIOS DE OVINOS DE PELO FINALIZADOS CON TANINOS Rojas Román Luis Antonio ¹ , Castro Pérez Beatriz Isabel ¹ , Plascencia Jorquera Alejandro ² Alfredo Estrada Angulo ¹ Germán Contreras Pérez ¹ Francisco Gerardo Ríos ¹	796
HISTORIA DE VIDA DEL <i>Bagre panamensis</i> (SILURIFORMES: ARIIDAE) DEL SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA Juan Antonio Maldonado Coyac ¹ , Jorge Saúl Ramírez Pérez ² , Rebeca Sánchez Cárdenas ² , Luis Antonio Salcido Guevara ² , Guillermo Rodríguez Domínguez ² , Dana Isela Arizmendi Rodríguez ³	807
VALOR ENERGÉTICO DE LA GRASA RECICLADA OBTENIDA DE VERTEDERO UTILIZADA COMO INGREDIENTE EN LAS DIETAS DE FINALIZACIÓN EN OVINOS Jorge Luis Ramos Méndez ¹ , Dr. Alfredo Estrada Angulo ¹ , Dr. Alejandro Plascencia Jorquera ² , Dr. Luis Corona Gochi ³ , Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez ¹ , Dr. Jesus David Urias Estrada ¹	821

ESTIMACIÓN DE VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES DE CHILES (<i>Capsicum</i> spp.) DE TRASPATIO-JARDÍN Y CRIOLLOS DE MÉXICO Carlos Eduardo Ornelas Ramírez	
ESTIMATION OF MORPHOLOGICAL VARIATION OF POPULATIONS OF PEPPERS (<i>Capsicum</i> spp.) OF BACKYARD GARDEN AND CREOLES FROM MÉXICO Carlos Eduardo Ornelas Ramírez ^{1*} , Sergio Hernández Verdugo ² , Saúl Parra Terraza ³ , Antonio Pacheco Olvera ⁴ , César Romero Higareda ⁵ .	828
INGESTIÓN EN LARVAS <i>Litopenaeus vannamei</i> ALIMENTADO CON MICROALGAS Y SU EFECTO EN EL DESARROLLO, CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA. Viviana Jazmin Pardo Huerta ¹ , María Alejandra Medina Jasso ² , Juan Francisco Arzola González ³ , Pablo Piña Valdez ⁴ , Francisco Bermúdez Lizárraga ⁵ y Vianey Navarrete Maldonado ⁶ .	838
CONCENTRACIONES DE NaOCI Y PERIODOS DE AGITADO EN LA EXTRACCIÓN Y ECLOSIÓN DE HUEVECILLOS DE <i>Meloidogyne incognita</i> Guillermo Gómez González ¹ , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ² , Tirzo Paúl Godoy Angulo ³ , Roberto Gastélum Luque ⁴ , Juan Eulogio Guerra Liera ⁴ y Jorge Fabio Inzunza Castro ⁴ .	845
UTILIZACIÓN DE PLACAS DE POLIMETILMETACRILATO EN OSTEOSÍNTESIS DE FRACTURAS DE RADIO Y ULNA EN CANINOS DE TALLA PEQUEÑA MVZ Yesenia Osuna Ramos ¹ , Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , MC José Ascención Pérez Corrales ¹ , Dra. Nohemí Castro del Campo ¹ y Dra. Idalia Enríquez Verdugo ¹	857
ESTRATEGIAS DE EXPLOTACIÓN DEL RECURSO PECES MARINOS DE ESCAMA CAPTURADO POR LA PESQUERÍA RIBEREÑA DE MAZATLÁN, SINALOA. María de los Ángeles Maldonado-Amparo ¹ , Jorge Saúl Ramírez-Pérez ² , Rebeca Sánchez-Cárdenas ² , Luis Antonio Salcido-Guevara ² , Emigdio Marín-Enríquez ³ , Just Tomas Bayle-Sempere ⁴ .	865
REVISIÓN LITERARIA SOBRE EL MURCIÉLAGO VAMPIRO COMÚN (<i>Desmodus rotundus</i>) Y SU INTERACCION CON LA ACTIVIDAD GANADERA EN LATINOAMÉRICA. Kathleen F. Galindo-Sánchez ^{1*} , Soila M. Gaxiola-Camacho ² , Luis F. Aguirre ³ , Aldo A. Guevara Carrizales ⁴ .	871
VIVIPARIDAD EN CACTACEAS DE CHIAPAS Santos Bersaín Pérez González ¹ , Álvaro Reyes Olivas ¹ , Gabriel Antonio Lugo García ¹ y Bardo Heleodoro Sánchez Soto ¹ .	875
VARIABILIDAD MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE DIFERENTES CEPAS DE <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> , EN EL CULTIVO DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) EN ZONAS PRODUCTORAS DE MÉXICO” Isidro Márquez Zequera, José Antonio Garzón Tiznado ¹ , Raymundo Saúl García Estrada ² , Idalia Verdugo Enríquez ¹ .	884
EVALUACIÓN DE UNA FUENTE ESTANDARIZADA DE SUPLEMENTOS DE ACEITES ESENCIALES (CRINA@DSM) EN COMPARACIÓN CON LA SUPLEMENTACIÓN DE MONENSINA EN CORDEROS ALIMENTADOS CON UNA DIETA ALTA EN ENERGÍA EN LA FASE DE FINALIZACIÓN. Yesica Janeth Arteaga Wences ¹ , Dr. Alfredo Estrada Angulo ¹ , Dr. Alejandro Plascencia Jorquera ² , Dr. Luis Corona Gochi ³ , Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez ¹ , Dr. Francisco Gerardo Ríos Rincón ¹	894
EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN DEL IMPLANTE HORMONAL, DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y CARACTERÍSTICAS DE CANAL DE BOVINOS EN SINALOA Gamaliel Molina Gámez ¹ , Horacio Dávila Ramos ¹ , José Adrian Félix Bernal ¹ , Juan Carlos Robles Estrada ¹ , Jesús José Portillo Loera ¹ .	902

OSTEOSINTESIS DE FRACTURA DIAFISARIA DE TIBIA EN PERROS, UTILIZANDO CLAVO CENTROMEDULAR CON AFEE. ROBERTO EDER VIDALES QUINTERO OSTEOSYNTHESIS OF DIAPHERIC TIBIA FRACTURE IN DOGS, USING CENTROMEDULLARY NAIL WITH AFEE M.V.Z. Roberto Eder Vidales Quintero ¹ , Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Mc. Jose Ascension Perez Corrales ¹ , Mc. Rodrigo Rocha Tirado ¹ , Dra. Nohemí Castro Del Campo ¹ , Dr. Miguel Angel Rodriguez Gaxiola ¹	907
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE Anaplasma spp. EN VENADOS COLA BLANCA (Odocoileus virginianus) EN CAUTIVERIO, EN SINALOA. Ibáñez Garduño Lucio Ricardo ¹ ; Gaxiola Camacho Soila Maribel ¹ , Enríquez Verdugo Idalia ¹ , Borbolla Ibarra Jaime Eleazar ¹ , Pérez Corrales José Ascención ¹	913
INFLUENCIA DE FOSFORO Y BACILLUS SUBTILIS EN CRECIMIENTO, PRODUCCION DE MATERIA SECA Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE FRIJOL Jesús Del Rosario Ruelas Islas	919
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA CABRILLA PIEDRERA Epinephelus labriformis EN LA COSTA DE MAZATLÁN, SINALOA. Josué Israel López Cardiel ¹ , Gustavo Alejandro Rodríguez Montes De Oca ¹ , Leonardo Ibarra Castro ² , Juan Manuel Martínez Brown ² , Rebeca Sánchez Cárdenas ¹ , Diana Judith López Peraza ¹	932
DETERMINACIÓN DE Mycoplasma haemocanis EN SANGRE Y EN GARRAPATAS INGURGITADAS DE CANINOS DE CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO Noyra Cristina Corona Soto ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Nohemí Castro del Campo ¹ , Mario Cesar Rubio Robles ¹ , José Ascención Pérez Corrales ¹	938
CONSERVACIÓN A CORTO PLAZO DEL ESPERMA DE PECES DE LA FAMILIA LUTJANIDAE DE IMPORTANCIA ECONÓMICA PARA EL PAÍS. Rodolfo Covantes Rosales ¹ , Marisela Aguilar-Juárez ² , Carmen G. Paniagua Chávez ³ , Antonio Estrada Godínez ² , Martin G. Frías Espericueta ² y Emilio Peña Mesinas ⁴	948
EFICIENCIA DEL SOPORTE NUTRICIONAL EN PACIENTES CANINOS PEDIATRICOS CRITICOS EN ESQUEMA DE ALIMENTACIÓN PARENTERAL PARCIAL Cesar Augusto Flores Dueñas ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Martin Francisco Montaña Gómez ² , Rafael Villa Angulo ³ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Tomás Rentería Evangelista ²	958
EFFECTO DE DOS ÁREAS DE SOMBRA Y GENOTIPO EN PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE VAQUILLAS ENGORDADAS EN CORRAL José Antonio Aguilar Quiñonez, Juan Eulogio Guerra Liera, Rubén Barajas Cruz, Lonel Avendaño Reyez, Miguel Angel Gastelum Delgado	968
RELACIÓN MERCURIO-SELENIO (Hg:Se) EN LA GUITARRA ESPINOSA Platyrrhinoidis triseriata Y EN EL GAVILÁN MOTEADO Aetobatus laticeps DEL NORTE DEL PACÍFICO MEXICANO Karen Zhulay Salas Garzón ¹ , Ofelia Escobar Sánchez ^{2,3} , Jorge Ricardo Ruelas Inzunza ⁴ , Martín Gabriel Frías Espericueta ³ , Carmen Cristina Osuna Martínez ³ y Martín Federico Soto Jiménez ⁵	981
IDENTIFICACIÓN DE RESISTENCIA A Bemisia tabaci EN GENOTIPOS SILVESTRES Y CRIOLLOS DE Solanum spp. EN MÉXICO. Jonathan Misael Lugo-Lujan ¹ , José Antonio Garzón-Tiznado ^{2*} , Jesús Enrique Retes-Manjarrez ^{3**} , Raymundo Medina-López ^{4***} , Jesús Portillo-Loera ^{5***} , Sixto Velarde-Félix ^{6***}	989
SUSTITUCIÓN DE ZILPATEROL DE PATENTE POR GENÉRICO EN OVINOS DE PELO EN FINALIZACIÓN: CALIDAD DE LA CARNE. Alejandro Rivera Villegas ¹	1001

DIVERSIDAD GENÉTICA Y POTENCIAL PATOGENICO DE POBLACIONES DE <i>Fusarium</i> spp. DE CULTIVOS DE CHILE (<i>Capsicum</i> spp.) EN EL ESTADO DE SINALOA Alfredo Gonzalez Castro.....	1012
REUTILIZACIÓN DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL PARA LA SINCRONIZACIÓN/ INDUCCIÓN DE ESTRO (CIDR): EFECTO SOBRE LA MICROBIOTA VAGINAL EN CAPRINOS Jesús Antonio Ceballos Rubio ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola ¹ , Jaime Eleazar Borbolla Ibarra ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Nohemí Castro del Campo ¹	1020
HÁBITAT POTENCIAL DEL MARLIN NEGRO, <i>Istiompax indica</i> (CUVIER, 1832) EN EL PACÍFICO ORIENTAL. Manuel Jorge Correia-Aguiar ¹ , Raúl Pérez-González ¹ , Martin Hall ² , Luis Antonio Salcido-Guevara ¹ , Nerea Lezama-Ochoa ² , Jorge Saúl Ramírez-Pérez ¹	1028
INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTO DE <i>Macleaya cordata</i> EN LA CARGA POR <i>Haemonchus</i> sp EN BECERROS AL INICIO DE LA ENGORDA Melissa Belem Corona Palazuelos ¹ , Rubén Barajas Cruz ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Javier Alonso Romo Rubio ¹	1039
EVALUACIÓN DE LOS REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y LÍPIDOS TOTALES DE JUVENILES DE ROBALO BLANCO <i>CENTROPOMUS VIRIDIS</i> . Samuel Angiee Ayón Jiménez ¹ , Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca ¹ , María Isabel Abdo de la Parra ² , Luz Estela Rodríguez Ibarra ² , Miguel Ángel Hurtado Oliva ¹ , Asahel Benítez Hernández ¹ . Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar.	1046
POBLACIONES DEL GUSANO DE LA CÁPSULA EN GARBANZO DE SINALOA: IDENTIFICACIÓN, EVALUACIÓN DE DAÑO Y MODELO DE PRONÓSTICO. Guadalupe Ascensión Betanzos ¹ , Carlos Alfonso López Orona ² , Moisés Gilberto Yáñez Juárez ³ , Guadalupe Alfonso López Urquidez ⁴ , Raymundo Medina López ⁵ y Edgardo Cortez Mondaca ⁶	1052
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE GARRAPATAS <i>Rhipicephalus microplus</i> PRESENTE EN BOVINOS DE SINALOA. Claudia Leonor Barraza-Tizoc ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Jaime Eleazar Borbolla Ibarra ¹ , María Teresa Quintero Martínez ²	1057
PATOGENICIDAD DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> RAZAS 0 Y 5 EN GENOTIPOS DE GARBANZO BAJO CONDICIONES CONTROLADAS. Jorge Alberto Edeza Urias ¹ , Carlos Alfonso López Orona ² , Sixto Velarde Félix ³ , Víctor Valenzuela Herrera ⁴ , Guadalupe Alfonso López Urquidez ⁵ , Jesús Enrique Retes Manjarrez ⁶	1065
ACTIVIDAD ANTITUMORAL, ANTICARCINOGENICA Y ANTIINFLAMATORIA DE COMPUESTOS Y FRACCIONES DEL FRUTO DE PAPACHE (<i>Randia echinocarpa</i>). Manrique Ojeda Ayala ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Francisco Delgado Vargas ^{2,3} , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Gabriela López Ángulo ³ , Ignacio Osuna Ramírez ²	1077
VARIACIÓN EN LA GERMINACIÓN ENTRE Y DENTRO DE POBLACIONES DE CHILE (<i>Capsicum annuum</i>) SILVESTRE DEL NOROESTE DE MÉXICO Mario Humberto Valenzuela Romero.....	1085
FERTILIZACIÓN INTEGRAL Y MANEJO DEL CO ₂ PRODUCIDO POR EL COMPOSTAJE EN EL CULTIVO PROTEGIDO DE CHILE JALAPEÑO Olivia Vanessa Encines Chaidez ,	

Felipe Ayala Tafoya, Tomás Díaz Valdés, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz, Marino Valenzuela López, Juan Martín Parra Delgado.....	1090
DIAGNÓSTICO DE <i>Brucella</i> spp. EN POBLACIÓN HUMANA Y GANADO CAPRINO Y BOVINO EN CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO. Dulce Carolina Sánchez García ¹ , Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho ² , Idalia Enríquez Verdugo ² , Dr. Efrén Díaz Aparicio ³ , Carlos Víctor Hernández Ramírez ⁴ , Ignacio Osuna Ramírez ⁵	1102
CONTRIBUCIÓN DE LA NMX-AA-120-SCFI-2016 A LA SUSTENTABILIDAD DE LAS PLAYAS DEL MUNICIPIO DE MAZATLÁN.....	1108
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL AJO (<i>Allium sativum</i>) FRESCO SOBRE <i>Salmonella</i> Enteritidis Y LA PRODUCTIVIDAD DE GALLINAS Miguel Antonio Cárdenas Contreras ¹⁻² , Jesús José Portillo Loera ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Carlos Alfonso López Orona ²	1120
EVALUACIÓN DEL STOCK TEMPLADO DE SARDINA DEL PACIFICO (<i>Sardinops sagax</i>) EN EL SUR DE LA CORRIENTE DE CALIFORNIA. Concepcion Enciso Enciso ¹ , Rebeca Sánchez Cardenas ¹ , Manuel O. Nevárez Martínez ² , Carolina V. Minte Vera ³ , Luis Antonio Salcido Guevara ¹ , Guillermo Rodríguez Dominguez ¹	1128
REACTIVIDAD CRUZADA DE LAS PROTEINAS DE <i>Mycobacterium smegmatis</i> CON SUEROS DE TUBERCULOSIS BOVINA Gilberto Quevedo Rocha ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Héctor López Pérez ¹	1139
CICLO REPRODUCTIVO DE LA ALMEJA CHOCOLATA <i>Megapitaria squalida</i> EN UN REFUGIO PESQUERO DE BAHÍA ALTATA, SINALOA, MÉXICO Lidian Sinahi Noriega Vidrio ¹ Jorge Saúl Ramírez Pérez ¹ Andrés Martín Góngora Gómez ² Manuel García Ulloa Gómez ² Juan Francisco Arzola González ¹ María Candelaria Valdez Pineda ¹	1146
TOLERANCIA A LA SALINIDAD EN POBLACIONES SILVESTRES DE CHILE (<i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>) DEL NOROESTE DE MÉXICO José Manuel Osuna Rodríguez RESISTANCE TO SALINITY IN WILD PEPPER (<i>Capsicum annuum</i> L.) FROM NORTHWEST OF MEXICO José Manuel Osuna Rodríguez ¹ ; Sergio Hernández Verdugo ¹ ; Saúl Parra Terraza ¹ ; Antonio Pacheco Olvera ¹ ; Joel Pineda Pineda ²	1156
CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE <i>Anaplasma ovis</i> EN OVINOS Y CAPRINOS DE CULIACÁN SINALOA Cesar Noé Badilla Medina , ¹ Idalia Enríquez Verdugo, ¹ Soila Maribel Gaxiola Camacho, ² Efrén Díaz Aparicio.....	1166
DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE OVEJAS PELIBUEY Y FACTORES QUE AFECTAN EL PESO AL NACER DE LOS CORDEROS EN CLIMA TROPICAL SECO Doctorado en Ciencias Agropecuarias Cinthya Beatriz Romo Barron ^{1*} , Jesús José Portillo Loera ¹ , Arnulfo Montero Pardo ¹ , María Teresa Espinoza León ¹ , Christian de Jesús Urías Castro ¹ Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola ¹ Carlos Fernando Aréchiga Flores ²	1172
EFFECTO DE DINOFLAGELADOS TÓXICOS EN LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA Y TRACTO DIGESTIVO DEL OSTIÓN DE PLACER <i>Crassostrea Cortezensis</i> (HERTLEIN, 1951) JMónica Areli Ibarra Alcaraz ^{1,2} , Miguel Ángel Hurtado Oliva ^{2,1} , Rosalba Alonso Rodríguez ^{3,2} , Mercedes Marlenne Manzano Sarabia ^{4,1} , Idalia Osuna Ruíz ^{5,3} , Omar Hernando Ávila Poveda ^{6,1}	1183
EFFECTO DE LA RELACIÓN C/N Y VELOCIDAD DE AIREACIÓN EN EL COMPOSTAJE DE GALLINAZA Sarahi de Jesús Heras Sierra	1189

BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL VIRUS HUASTEKO VENA AMARILLA DEL CHILE EN POBLACIONES SILVESTRES Y CRIOLLAS DE CHILE (<i>Capsicum</i> spp.). Elida Concepción González López ¹ , José Antonio Garzón Tiznado ² , Sergio Hernández Verdugo ³ , Jesús Enrique Retes Manjarrez ⁴ , Sixto Velarde Félix ⁵	1195
PREVALENCIA DE <i>Haemonchus contortus</i> Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A CORDEROS DEL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA. Jesús Daniel Solís Carrasco ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Nohemí Castro del Campo ¹ ,.....	1202
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA CABRILLA PIEDRERA <i>Epinephelus labriformis</i> EN LA COSTA DE MAZATLÁN, SINALOA Josué Israel López Cardiel ¹ , Gustavo Alejandro Rodríguez Montes De Oca ¹ , Leonardo Ibarra Castro ² , Juan Manuel Martínez Brown ² , Rebeca Sánchez Cárdenas ¹ , Diana Judith López Peraza ¹	1208
IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y POTENCIAL PATOGENICO DE POBLACIONES DE <i>Fusarium</i> spp. DEL CULTIVO DE TOMATE (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) EN EL ESTADO DE SINALOA Tomás Aarón, Vega Gutiérrez ¹ , Guadalupe Alfonso, López Urquidez ¹ , Ángel Roberto, Martínez Campos ² , Raúl, Allende Molar ³ , Sixto, Velarde Félix ⁴ y Carlos Alfonso López Orona ¹ *.....	1214
SITUACIÓN DE LA RELACIÓN GANADO-JAGUAR (<i>Panthera onca</i> Linnaeus, 1758) EN UN CORREDOR BIOLÓGICO Y SU IMPACTO EN LA CONSERVACIÓN Y EL DESARROLLO COMUNITARIO EN SINALOA, MÉXICO Rubio Rocha Yamel Gpe. ^{1*} , Gaxiola Camacho Soila M. ¹ , Chávez Tovar Cuauhtémoc ² , Velázquez Alcaraz Teresa de J. ³ ; Reyes Oliva Alvaro ⁴	1232
SUCESIÓN E INTERACCIÓN BACTERIANA Y MICROALGAL EN UN SISTEMA HIPERINTENSIVO DE CAMARÓN BLANCO (<i>Penaeus vannamei</i>) Luis Humberto Madero López ¹ , Mario Nieves Soto ¹ , Sonia Araceli Soto Rodríguez ² , Otoniel Carranza Días ¹ , Miguel Ángel Hurtado Oliva ¹ , Paola Magallón Servín ³	1238
TOLERANCIA A LA SALINIDAD EN POBLACIONES SILVESTRES DE CHILE (<i>Capsicum annum</i> var. <i>glabriusculum</i>) DEL NOROESTE DE MÉXICO RESISTANCE TO SALINITY IN WILD PEPPER (<i>Capsicum annum</i> L.) FROM NORTHWEST OF MEXICO José Manuel Osuna Rodríguez ¹ ; Sergio Hernández Verdugo ¹ ; Saúl Parra Terraza ¹ ; Antonio Pacheco Olvera ¹ ; Joel Pineda Pineda ²	1250
DETECCIÓN MOLECULAR POR LAMP Y PCR ANIDADA DE <i>M. gallisepticum</i> Y <i>M. synoviae</i> EN AVES DE POSTURA COMERCIAL EN MEXICO Miguel Ángel Cháidez Ibarra, Soila Maribel Gaxiola Camacho, Idalia Enríquez Verdugo, Nohemí Castro del Campo, Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola.....	1262
TALLAS Y FECUNDIDAD DEL CANGREJO ROCA <i>Grapsus grapsus</i> EN ISLAS DE BAHÍA NAVACHISTE, SINALOA, MÉXICO Yecenia Gutiérrez Rubio ¹ , Juan Francisco Arzola González ^{1,2} , Jorge Saúl Ramírez Pérez ^{1,2} , Raúl Pérez González ^{1,2} Andrés Martín Góngora Martínez ³ , Guillermo Rodríguez Domínguez ^{1,2} , María Candelaria Valdez Pineda ² , Jesús Manuel Díaz Gaxiola ⁴ Rebeca Sánchez Cárdenas ² , Luis Antonio Salcido Guevara ²	1268
EFFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA GERMINACIÓN Y SUPERVIVENCIA DE PITAYA (<i>Stenocereus thurberi</i>) EN EL NORTE DE SINALOA Roberto Carlos Cárcamo Aréchiga, Álvaro Reyes Olivas, Bardo Heliodoro Sánchez Soto, Gabriel Antonio Lugo García.....	1280

EFFECTO DEL CLORHIDRATO DE ZILPATEROL Y VITAMINA D3 EN OVINOS: CRECIMIENTO, CARACTERÍSTICAS DE CANAL Y CALIDAD DE CARNE Karla Hildeliza Leyva Medina, Dr. Juan Carlos Robles Estrada, Dr. Horacio Dávila Ramos, Dr. Jesús José Portillo Loera, Dr. Francisco Gerardo Ríos Rincón.....	1295
EFFECTO DE SILICIO Y CLORO EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS, RENDIMIENTO Y CALIDAD POSTCOSECHA DE TOMATE F ₃ Luz Llarely Cázarez Flores EFFECT OF SILICON AND CHLORINE ON TOMATO PLANT GROWTH, PERFORMANCE AND POST-HARVEST QUALITY F3 Luz Llarely Cázarez Flores*, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz, Leopoldo Partida Ruvalcaba, Felipe Ayala Tafoya, Tomas Díaz Valdez	1309
PAQUETE TECNOLÓGICO EN POSCOSECHA DE CHILE BELL (<i>Capsicum annuum</i> L.) PARA SU TRANSPORTE A MERCADOS DISTANTES Rosalba Contreras Martínez ¹ , Teresa de Jesús Vázquez Alcaraz ¹ , Manuel Alonzo Báez Sañudo ² , Felipe Ayala Tafoya ¹ , Carlos Alfonso López Orona ¹ , Tomás Díaz Valdés ¹ y Moisés Gilberto Yáñez Juárez ¹	1318
SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A <i>Rickettsia rickettsii</i> EN PERROS DEL SUR DE SONORA, MÉXICO Jesús Raymundo Cedillo Cobián ¹	1325
RESPUESTAS PLÁSTICAS DE CHILE SILVESTRE (<i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>) DE TRES REGIONES DE MÉXICO A TRATAMIENTOS DE DISPONIBILIDAD DE AGUA César Enrique Romero Higareda, Sergio Hernández Verdugo ¹ , Antonio Pacheco Olvera ²	1332
TEMPERATURA Y PRESIÓN OSMÓTICA DEL CRECIMIENTO in vitro DE <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> . Kynzú Berenice Castro Valdez ¹ , Carlos Alfonso López Orona ² , Mitzi Dayanira Estrada Acosta ² , Tomás Díaz Valdés ² , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² y Felipe Ayala Tafoya ²	1344
EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN RATONES, POR INMUNIZACIÓN CON LA PROTEÍNA VIRB9 de <i>Anaplasma marginale</i> Iribe Zazueta Alberto ¹ , Idalia Enríquez Verdugo ¹ , Soila Maribel Gaxiola Camacho ¹ , Nohemí Castro del Campo ¹	1353
IMPACTO DE LA DOSIS DE N Y K EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE MANGO “ATAULFO” CULTIVADO EN SAN MARCOS, GUERRERO Nieves Briceida Perez Meza ¹ , Tomás Díaz Valdés ¹ , Cesar San Martin Hernández ² , Ma. Dolores Muy Rangel ² , Carlos Alfonso López Orona ¹ , Felipe Ayala Tafoya ¹	1358
SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE CHILE HABANERO (<i>Capsicum chinense</i> Jacq.) CULTIVADOS EN CASA SOMBRA EN EL VALLE DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA Aurelia Mendoza Gómez ¹ , Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz ² , Leopoldo Partida Ruvalcaba ² , Tomás Díaz Valdés ² , Felipe Ayala Tafoya ² y Mario Ernesto Vázquez Badillo ³	1365
EFFECTO DEL ESTRÉS CALÓRICO SOBRE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS, PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS DE BOVINOS, OVINOS, CAPRINOS Y PORCINOS: MAPEO SISTEMÁTICO DE ESTUDIOS PRIMARIOS Díaz, D.1, ² , Gaxiola, S.M. ² , Montero, A. ²	1377
DETERMINAR LA INTERACCION DE <i>Spodoptera frugiperda</i> SMITH EN LA SEVERIDAD DE LA FUSARIOSIS EN MAIZ (<i>Zea mays</i> L.) Armenta Chavez Rogelio ¹ , Díaz Valdés Tomás ² , López Orona Carlos Alfonso ² , Ayala Tafoya Felipe ² , Yáñez Juárez Moisés Gilberto ² , Velázquez Alcaraz Teresa de Jesús ²	1389

CONDICIÓN VISCERAL Y BIOMINERALIZACIÓN RADULAR EN *Chiton articulatus* (MOLLUSCA: POLYPLACOPHORA)

Brenda Paola Ramirez-Santana¹, δ , Omar Hernando Avila-Poveda^{1,2}, Miguel Ángel Hurtado-Olivas¹, Diana Judith López-Peraza¹, Raúl Pérez-González¹ y Gustavo Alejandro Rodríguez-Montes-de-Oca¹

1. Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR), Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS).
Mazatlán, Sinaloa, México

2. Dirección de Cátedras-CONACYT, CONACYT. Ciudad de México, México.

δ . **Estudiante de posgrado**

brendapaola_facimar@uas.edu.mx

INTRODUCCIÓN

Los hábitats heterogéneos son lugares con una estructura física compleja que pueden proveer diversos nichos ecológicos y formas de explotar el ambiente, incrementando la diversidad de especies presentes en estos hábitats (Barnes, 1994).

Para que las especies vivan en un ambiente heterogéneo, por ejemplo, un intermareal rocoso, es necesario que desarrollen ciertas adaptaciones o variaciones fisiológicas (ej. tipo de alimentación, crecimiento y reproducción) y anatómicas (ej. forma del cuerpo, órganos especializados) que faciliten la manutención del estado funcional, es decir, que el individuo tenga la capacidad de realizar de manera normal aquellos procesos fisiológicos que garanticen su supervivencia (Arrieche *et al.*, 2002).

Mantener el estado funcional requiere de la energía sintetizada de los alimentos (Arrieche *et al.*, 2002). Existen diversos métodos para cuantificar el intercambio energético de un organismo mediante índices de condición somática (Arrieche *et al.*, 2002; De-la Hoz-Aristizábal, 2010; Avila-Poveda, 2013), para los cuales se usan los pesos de los órganos respecto al peso total del individuo.

Por ejemplo, para conocer la condición visceral, se puede utilizar el peso de las vísceras (glándula digestiva, estómago, intestinos) para obtener un índice visceral (IVSM= (peso vísceras/ peso total – peso vísceras*100). Dado que en este conjunto de órganos es donde se realizan procesos de digestión, absorción, distribución y almacenamiento de energía, se puede asumir a través del índice que, entre más peso tenga un órgano, mayor es la ingesta de alimento (condición visceral) y por lo tanto existe la energía necesaria para realizar diversos procesos fisiológicos, es decir, existe un estado funcional (Arrieche *et al.*, 2002).

Dado que la obtención de energía es vital para cualquier organismo, a lo largo de la historia en la naturaleza se han desarrollado diversas estructuras del aparato digestivo. En este sentido, un grupo bastante interesante por las adaptaciones generadas en las estructuras que forman parte del aparato digestivo, son los moluscos (Steneck y Watling, 1982).

El perfeccionamiento del aparato digestivo mediante estructuras especializadas en el aparato bucal ha sido vital para la diversificación del grupo ya que gracias a este surgen distintos tipos de dietas, logrando la adaptación a distintos hábitats (Scott y Kenny, 1998).

La rádula es el componente principal del aparato bucal de los moluscos. Se encuentra en siete (Scaphopoda, Caudofoveata, Aplacophora, Monoplacophora, Polyplacophora, Gasterópoda, Cephalopoda) de las ocho clases de moluscos, siendo la clase Bivalvia la única que, al ser filtradora, carece de dicha estructura; el resto de las clases tienen hábitos alimenticios de tipo carnívoro, herbívoro u omnívoro, por lo que la presencia de una estructura dura como la rádula permite llevar a cabo la extracción, trituración y transporte del alimento hacia las vísceras (Steneck y Watling, 1982; Shaw, 2003; 2007).

La rádula de los moluscos tiene la apariencia de un listón. Se compone por distintas hileras que de manera general presentan filas de 17 dientes con distinta morfología y función (Padilla 1998, 2003; García-Ríos 2006).

Durante la formación de la rádula se lleva a cabo un proceso conocido como biomineralización que consiste en la deposición de distintos minerales en los dientes (Boyle, 1975; Padilla, 1998; Brooker y Shaw, 2012). La presencia de minerales confiere dureza y otorga un período de vida útil a los dientes de acuerdo con la cantidad y tipo de mineral sintetizado por el organismo (Padilla, 2003; García-Ríos, 2006). Los minerales se obtienen a través del alimento ingerido una vez que la parte orgánica y la parte inorgánica son sintetizadas y distribuidas a distintas partes del organismo (Brooker y Shaw, 2012).

La condición visceral y la biomineralización radular mantienen una relación bastante estrecha. ya que si la condición visceral no es óptima, la biomineralización no se puede llevar a cabo debido a la falta de energía para formar el epitelio y la matriz orgánica en donde se forma el “esqueleto” de los dientes y donde se depositan los minerales (Shaw, 2003,2007), mientras que si la rádula no está biomineralizada, los dientes no pueden llevar a cabo su función, haciendo la ingesta de alimento muy difícil o casi nula y, por lo tanto, provocando que el estado funcional del organismo comience a decaer (Steneck y Watling, 1982).

Estudios sobre la importancia de mantener el estado funcional se han realizado en moluscos, principalmente en bivalvos y gasterópodos (Arrieché *et al.*, 2002; De-la Hoz-Aristizábal, 2010). Para el caso de los poliplacóforos, Avila-Poveda (2013) realizó un estudio sobre el cambio anual en la morfometría, índices somáticos y reproductivos en organismos adultos de *Chiton articulatus* en Oaxaca. En este estudio con animales silvestres de una zona tropical, se puede observar la variación de la condición visceral en el tiempo y, hacia que órganos se distribuye la energía a fin de mantener los procesos fisiológicos funcionando de manera óptima.

En cuanto a la estructura y proceso de biomineralización radular, se han realizado estudios con el objetivo de entender la importancia de la estructura y forma de los dientes, por ejemplo, Padilla (1998) y Grümbsaum y Padilla (2014), realizaron un estudio con la rádula del

gasterópodo *Lacuna vincta*, en poblaciones presentes en diferentes latitudes en la Isla de San Juan, Washington, Estados Unidos, encontrando que las poblaciones que habitan a mayor latitud presentaban dientes con punta roma en la rádula, a diferencia de las poblaciones de latitudes menores, en donde los dientes fueron puntiagudos; estas características en los dientes de la rádula se dan debido al tipo de alga presente en cada zona, por lo que a pesar de ser la misma especie y vivir en la misma zona, la disponibilidad, competencia por el alimento y las características del microhábitat pueden inducir una plasticidad fenotípica en la rádula.

Un estudio similar se realizó por Sigwart y Schwabe (2017), en donde observaron la plasticidad morfológica del tracto digestivo y la rádula en distintas especies de poliplacóforos con distintos tipos de alimentación, observando que aquellas especies que presentaron hábitos de alimentación herbívora tenían una rádula más pequeña en relación a la longitud corporal a diferencia de aquellos que tenían hábitos carnívoros o detritívoros cuya rádula abarcaba poco más de la mitad de la longitud corporal, además, también observaron que el tipo de alimentación modula la proporción de biomineralización radular entre un 80-90%, siendo menor de nueva cuenta en herbívoros.

Por otro lado, Shaw (2007) realiza un estudio experimental en el cual somete a quitones del género *Acanthopleura hirtosa* recién extraídos del intermareal a una dieta baja en hierro durante tres meses, teniendo como control un grupo de quitones que mantuvieron sin dieta. Los resultados mostraron que la rádula de los quitones con dieta baja en hierro tenía pocos dientes biomineralizados y sin la dureza típica que encontrada en el grupo control, esto provocó que los quitones con poca o nula biomineralización, no fueran capaces de obtener su alimento de manera óptima debido a la falta de una estructura funcional que les permitiera llevar a cabo el proceso de alimentación.

JUSTIFICACIÓN

La relación entre la condición visceral y la biomineralización radular juega un papel importante en el desarrollo y supervivencia de los moluscos debido a que ni puede ser uno sin el otro; Conocer más sobre la forma en que se relacionan estos procesos otorga un panorama ecológico sobre la heterogeneidad del hábitat (altitud o microambiente) y como este puede influir en la modulación de distintos procesos fisiológicos.

Chiton articulatus es un molusco poliplacóforo endémico del Pacífico tropical mexicano en donde se le encuentra en el intermareal rocoso. Se distribuye en siete estados: Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. Es conocido como “cucaracha de mar” al norte de su distribución y como “lengua de perro” en el sur de su distribución (Holguín-Quiñones, 2006; Olea-de-la-Cruz *et al.* 2013).

Esta especie es importante en el ecosistema del intermareal rocoso ya que es un herbívoro dominante que cumple con la función de ser un controlador biológico de algas, funge también como basibionte de moluscos y crustáceos (Alvarez- Cerrillo *et al.* 2017) además de

que es presa del gasterópodo *Plicopurpura pansa* (Olea-de-la-Cruz *et al.* 2013). Es además una especie de interés económico ya que, en los estados del sur como Oaxaca y Guerrero, este organismo es consumido por locales y turistas, a quienes se les ofrece como platillo Gourmet afrodisíaco; su concha también es aprovechada para hacer joyería como pulseras y collares (Holguín-Quiñones, 2006; Olea-de-la-Cruz *et al.* 2013).

HIPÓTESIS

- 1) La condición visceral y la biomineralización radular tienden a mantener una relación directamente proporcional en el tiempo.
- 2) En dos ambientes diferentes (Sinaloa y Oaxaca) habrá diferencia en la proporción de dientes biomineralizados y en la tasa de biomineralización entre localidades.

OBJETIVOS

General

Evaluar la relación entre la condición visceral y la biomineralización radular del molusco polioplacóforo *Chiton articulatus* y como la rádula cambia en dependencia del hábitat.

Particulares

- Evaluar la condición visceral de *Chiton articulatus*.
- Estimar la proporción de biomineralización radular.
- Calcular la tasa de biomineralización radular.
- Cuantificar la cantidad de dientes por milímetro.
- Comparar la condición visceral y biomineralización entre localidades (Sinaloa y Oaxaca).

METODOLOGÍA

Como parte de la campaña de investigación “**Proyecto quitón del Pacífico tropical mexicano**” llevada a cabo desde octubre de 2015 hasta octubre de 2016 se recolectaron quitones de manera mensual a lo largo de la distribución de *Chiton articulatus*. Todos los especímenes recolectados fueron relajados, fijados y conservados, siguiendo los protocolos establecidos por Avila-Poveda (2013); posteriormente en el laboratorio se llevó a cabo un proceso de disección para la obtención de rádulas y vísceras de acuerdo con Abadía-Chanona *et al.* (2016) además de la toma de biometrías.

Con el material obtenido de las disecciones, se llevará a cabo la observación y digitalización individual de las rádulas a través de un microscopio estereoscópico Leica MC170 con cámara. A continuación, se procesarán las imágenes mediante el programa Photoshop CS6, donde se unirán las fotos individuales de cada sección de la rádula, y se realizará la toma de biometrías de la rádula (longitud total, número de dientes totales, dientes biomineralizados).

Se creará una base de datos con las biometrías tomadas de vísceras y rádula y estos se utilizarán para obtener los índices de condición visceral (Índice Viscerosomático IVSM) propuesto por Avila-Poveda (2013): $IVSM = (\text{peso vísceras} / \text{peso total} - \text{peso vísceras}) * 100$; el índice de proporción de biomineralización (Pbiom) descrito por Sigwart y Schwabe (2017): $Pbiom = \text{dientes biomineralizados} / \text{total de dientes}$; Se obtendrá la tasa de producción de dientes en el tiempo (por mes): $\Delta = \text{dientes biomineralizados finales} - \text{dientes mineralizados iniciales} / 1$ y la producción de dientes por milímetro (Dmm): $Dmm = \text{Total dientes} / \text{longitud rádula}$.

Finalmente, para la comparación de las diferencias significativas de la condición visceral y biomineralización de Sinaloa y Oaxaca, entre meses los datos serán transformados y evaluados a través del análisis de varianza (ANOVA).

LITERATURA CITADA

- Abadía-Chanona, QY. 2015. Maduración gonádica, ciclo reproductivo y talla de madurez sexual del quitón *Chiton (Chiton) articulatus* (Mollusca: Polyplacophora) de la costa rocosa de Puerto Ángel, Oaxaca, México (tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur, México.
- Alvarez-Cerrillo LR, Valentich-Scott P, Newman WA. 2017. A remarkable infestation of epibionts and endobionts of an edible chiton (Polyplacophora: Chitonidae) from the Mexican tropical Pacific. *The Nautilus* **131**: 87-96.
- Arrieche, D., Licet, B., García, N., Lodeiros, C. y Prieto, A. 2002. Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del Morro de Guarapo, Venezuela. *Interciencia* **27 (11)**: 613-619.
- Avila-Poveda OH. 2013. Annual change in morphometry and in somatic and reproductive indices of *Chiton articulatus* adults (Mollusca: Polyplacophora) from Oaxaca, Mexican Pacific. *American Malacological Bulletin* **31**: 65–74. DOI: 10.4003/006.031.0118
- Barnes, R. 1994. *Zoología de los Invertebrados*. Oregón, Estados Unidos: Interamericana Mc Graw Hill. ISBN 968-25-2452-0
- Boyle, P.R. 1975. Fine Structure of the Subradular Organ of *Lepidochitona cinereus* (L), (Mollusca, Polyplacophora). *Cell and Tissue Research* **162** (3): 411-417.
- Brooker, L.R. y Shaw, J.A. 2012. The Chiton Radula: A Unique Model for Biomineralization Studies. *Advanced Topics in Biomineralization* 65-85. Conference paper ISBN 9789535100454
- De-la Hoz-Aristizábal, MV. 2009. Condición somática de la almeja *Polymesoda solida* (Veneroidea: Corbiculidae) durante el periodo lluvioso, en el Parque Natural Isla de Salamanca, Caribe colombiano. *Biología Tropical* **58 (1)**: 131-145. DOI 10.15517/RBT.V58I1.5199
- García-Ríos, C.I. 2006. A new species of *Lepidochitona* (Mollusca: Polyplacophora) from El Salvador. *The Veliger* **48** (3): 206-214.
- Grünbaum, D & Padilla DK. 2014. An integrated modeling approach to assessing linkages between environment, organism, and phenotypic plasticity. *Integrative and Comparative Biology* **54** (2): 323-335. <https://doi.org/10.1093/icb/icu045>

- Guralnick, R. y Smith, K. 1999. Historical and biochemical analysis of integration and dissociation in Molluscan feeding, with special emphasis on the true limpets (Patellogastropoda: Gastropoda). *Journal of Morphology* **241**: 175-195.
- Holguín-Quiñones, O.F. 2006. Moluscos bentónicos de interés económico y potencial de las costas de Michoacán, Colima y Jalisco, México. En: M.C. Jiménez-Quiroz y Espino-Barr, eds., *Los recursos pesqueros y Acuícolas de Jalisco, Colima y Michoacán*. SAGARPA-INP-CRIP, Manzanillo, México. pp 121-130.
- Olea-de-la-Cruz, F. G., S. García-Ibáñez, R. Flores-Garza, P. Flores-Rodríguez, A. Valdés-González, D. G. Arana-Salvador, and I. E. Bernabé-Moreno. 2011. Comparative study of the use of sea cockroach *Chiton articulatus* Sowerby in Broderip & Sowerby, 1832 (Mollusca: Polyplacophora) in Acapulco, Guerrero, Mexico. *44th Western Society of Malacologists Annual Meeting, and 12th National Biennial Meeting of Malacology and Conchology of the Sociedad Mexicana de Malacología*. June 27–30, 2011, La Paz, Baja California Sur, México.
- Padilla, D.K. 1998. Inducible Phenotypic Plasticity of the Radula in *Lacuna* (Gastropoda: Littorinidae). *The Veliger* **41** (2): 201-204.
- Padilla, D.K. 2003. Form and function of radular teeth of herbivorous molluscs: Focus on the future. *American Malacological Bulletin*. IBN-0090902
- Scott, B. J. y Kenny, R. 1998. Phylum Mollusca: Morphology and Physiology of the Mollusca, pp. 11-23 In: Beesley, P.L. Ross G.J.B. and Wells A. (eds). *Mollusca: The Southern Synthesis Part A, Fauna of Australia*, CSIRO, Melbourne.
- Shaw, J.A. 2003. Studies on the radula and feeding mechanisms in three species of intertidal molluscs (tesis de licenciatura).
- Shaw, J.A. 2007. Biomineralization processes in the radula teeth of the chiton *Acanthopleura hirtosa* (Mollusca: Polyplacophora) (Tesis de doctorado). Universidad de Murdoch, Oeste de Australia.
- Sigwart, J.D. y E. Schwabe. 2017. Anatomy of the many feeding types in polyplacophoran molluscs. *Invertebrate Zoology* **14** (2): 205-216. <https://doi.org/10.15298/invertzool.14.2.16>
- Steneck, R. S. y Watling, L. 1982. Feeding capabilities and Limitation of Herbivorous Molluscs: A Functional Group Approach. *Marine Biology* **68**: 299-319. DOI: 10.1007/BF00409596

VARIACIÓN EN LOS RASGOS REPRODUCTIVOS DE DOS POBLACIONES DE *Chiton articulatus* (MOLLUSCA: POLYPLACOPHORA) EN LOCALIDADES FRONTERA DE SU

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Isis Laura Alvarez-García^{1, 5}, Omar Hernando Avila-Poveda^{1,2}, Marcial Arellano-Martínez³, Guillermo Rodríguez-Domínguez, Quetzalli Yasu Abadia-Chanona¹

1. Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR), Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Mazatlán, Sinaloa, México alvarezgarciaisislaura@gmail.com
2. Dirección de Cátedras-CONACYT, CONACYT. Ciudad de México, México.
3. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), Instituto Politécnico Nacional (IPN), Baja California Sur, La Paz, México.

INTRODUCCIÓN

Los rasgos reproductivos como Ciclo reproductivo, Temporada reproductiva, Proporción sexual, Talla de madurez sexual ($Tm_{50\%}$), Fecundidad, Sexualidad, entre otros garantizan, en su conjunto la perpetuación de las especies a través del tiempo. Estos rasgos pueden variar globalmente siguiendo un gradiente latitudinal. En especies de invertebrados marinos que habitan en latitudes bajas como es la zona tropical, las especies pueden presentar una temporada reproductiva continua durante todo el año. Tal es el caso del poliplacóforo *Eunoplochiton niger* (Ishiyama *et al.*, 1994) y *Chiton articulatus* (Abadia-Chanona *et al.*, 2018). Mientras que en las especies que habitan en latitudes altas, como la zona templada, la temporada reproductiva es marcadamente estacional, ejemplo de esto es *Katharina tunicata* (Giese y Boolootian, 1959) y *Tonicella lineata* (Himmelman, 1979). También hay especies de invertebrados marinos, que aunque se distribuyan dentro de una misma región amplia (i. e. tropical), sus rasgos varían con la latitud. En este caso se encuentra *Diadema setosum* (Echinodermata) que según Pearse, (1967) el desove puede ocurrir rítmicamente, mensualmente, en localidades cercanas al Ecuador y a medida que se aleja de este, la actividad reproductiva se restringe cada vez más hasta que se limita a los meses de verano. Otro aspecto interesante es cuando encontramos especies en los límites de su distribución y de zonas latitudinales (i.e. Tropical-subtropical), la Temporada reproductiva de esas poblaciones puede presentar características diferentes al resto de las poblaciones dentro de toda su área de distribución.

Chiton articulatus es un molusco poliplacóforo, que se distribuye a lo largo de todo el Pacífico tropical mexicano y es endémico de esta zona. Sus localidades fronteras de distribución geográfica son Sinaloa, límite norte y Oaxaca, límite sur, abarcando 8 ° de diferencia latitudinal entre sí. Habita en el intermareal rocoso y se alimenta de algas, actuando como controlador biológico, su cuerpo sirve de sustrato a diferentes organismos basibiontes. Es consumido sobre todo en la parte sur de su distribución y es ofrecido en restaurantes y marisquerías pero no está incluido como un recurso pesquero, por lo que carece de regulación sobre su consumo. Se conoce que su reproducción es continua a lo largo de todo el año en Oaxaca (Abadia-Chanona *et al.*, 2018), su límite sur de distribución sur, pero se desconoce cómo se reproduce en el límite norte (Sinaloa).

Para contrastar lo que se conoce sobre la variación de los rasgos reproductivos de las especies de invertebrados marinos de amplia distribución de acuerdo a la latitud y al microambiente, se tomarán muestras de dos localidades tropicales, (Oaxaca) y (Sinaloa), que son frontera y extremos de la distribución de *C. articulatus*. Bajo el supuesto de que: si especies de invertebrados marinos de amplia distribución en una misma zona latitudinal presentan variaciones en sus rasgos reproductivos, entonces las poblaciones de *C. articulatus* de Sinaloa presentarán rasgos reproductivos diferentes a los de Oaxaca, al ser localidades límites de su distribución geográfica.

Objetivos

Determinar a través de la examinación histológica gonadal y el uso de índices reproductivos si existe variación en los rasgos reproductivos entre dos poblaciones de *C. articulatus* de diferente latitud que además son fronteras de su área de distribución geográfica (Sinaloa y Oaxaca).

Metodología

El muestreo fue mensual desde octubre de 2015 a octubre de 2016. Con una n promedio de 36 individuos. Los ejemplares se escogieron maduros ($Lt > 40$ mm) (Avila-Poveda y Abadía-Chanona, 2013). Posteriormente, se continuó con el protocolo para relajación, fijación y conservación y una vez en el laboratorio se procedió a la disección de los organismos (Abadía-Chanona, 2014). Se tomó la Longitud Total (Lt) con un vernier (± 0.1 mm) Ancho Total (At) (Avila-Poveda, 2013), Peso Total (Wt) y Peso de la gónada (WG) con una balanza analítica (± 0.001 g) .

Procesamiento histológico

Cada gónada se cortará en varias secciones transversales que se deshidratarán en series de etanol, se aclararán e infiltrarán en parafina (Avila-Poveda y Abadía-Chanona, 2013). Se realizarán cortes seriados de 4 a 5 μ m de grosor con un micrómetro. Luego se teñirán con Hematoxilina de Groat, eritrosina B-naranja G y Azul tripan o verde luz (Crossmon, 1937; Gray, 1954; Gutiérrez, 1967) que permite contrastar el tejido conectivo y revela las reserva vitelogénicas. La tinción será dirigida hacia las hembras en el final con azul tripan y para los machos al final con verde luz, esto permite observar mejor contraste en las estructuras celulares (Avila-Poveda y Abadía-Chanona, 2013). Luego se sellarán los cortes con resina sintética y secarán por una semana.

Determinación de estadios gonádicos, Ciclo Reproductivo y temporada reproductiva.

Se utilizará la metodología propuesta por (Abadía-Chanona *et al.*, 2014; Abadía-Chanona *et al.*, 2016) para *C. articulatus*, que considera la estructura anatómica de la gónada y el proceso de maduración de los gametos. Se realizarán observaciones panorámicas de cortes transversales. Luego se clasificará en 5 estadios: I: Goniogénesis, II: Desarrollo, III: Madurez, IV: Desove y V: Reposo.

Determinación del Ciclo Reproductivo

El ciclo reproductivo se representará mediante gráficos de frecuencia para mostrar la variación en las frecuencias de los diferentes estadios de desarrollo gonádico de los organismos durante el periodo de muestreo.

Establecimiento del Periodo Reproductivo

Se definirá como el período de tiempo en el cual se observa la frecuencia más alta de individuos en estado de madurez y desove. Se hallará el Índice Gonadosomático (*GSI*) e Índice de Madurez Microscópico (*IMMi*).

El *GSI* es una medida de la ganancia de peso de la gónada y se asume que, a mayores valores, mayor será el llenado de las gónadas con gametos maduros. En consiguiente representará el período de madurez gonadal. Por el contrario, los valores más bajos representarán un vaciado de la gónada.

$$GSI = \frac{WG}{Wt - WG} \times 100$$

Donde:

WG: Peso de la gónada.

Wt: Peso del individuo total

Índice de Madurez Microscópico (*IMMi*).

El *IMMi* ha sido utilizado en invertebrados de gónada difusa (Abadía-Chanona, 2014).

$$IMMi = \frac{\sum[1(E1) + 2(E2) + \dots + n(En)]}{N}$$

Donde:

E1: No. de organismos en estadio I

E2: No. de organismos en estadio 2

En: No. de organismos en estadio n (II, IV, V, n)

N: No. total de organismos muestreados por mes

Determinación de la Proporción sexual.

Se calculará mensualmente y para el total de la muestra, dividiendo el número de machos entre el número de hembras. Se realizarán pruebas de hipótesis asumiendo que existe una proporción sexual 1:1. Se utilizará el estadístico Chi-cuadrado, con la corrección de Yates (χ^2) en caso de ser necesario.

Estimación de la Talla de Madurez Sexual ($T_{m50\%}$)

La Talla de Madurez Sexual constituye uno de los parámetros reproductivos básicos en el análisis de pesquerías ya que permite separar la fracción madura de un stock donde el 50% los individuos han dejado descendencia al menos una vez. Es la base para establecer una Talla Mínima de Captura (TMC) como medida de manejo de un recurso pesquero (Abadía-Chanona *et al*, 2015) y en dependencia de cómo varíe este parámetro, así cambiará la TMC.

Para estimar la $T_{m50\%}$ se utilizará el método establecido por Abadía-Chanona *et al.* (2015). Será la frecuencia relativa acumulada de los organismos adultos (≥ 40 mm LT) por intervalos de clase de 4mm. Se seleccionarán los organismos que se encuentren en los estadios de maduración gonadal: Madurez, Desove y Reposo. Se utilizará la función logística sigmoideal:

$$y = a [1 + b * e^{-cx}]^{-1}$$

La $T_{m50\%}$ se estimará para las medidas morfométricas correspondientes esta tesis.

Comparación de los rasgos reproductivos entre Oaxaca y Sinaloa.

Se compararán los rasgos reproductivos entre las dos localidades, a fin de observar su variación.

Resultados Preliminares

El índice Gonadosomático (IGS) de ambas poblaciones presentan la misma tendencia, pero con diferente amplitud durante el periodo octubre-2105-abril-2016. Oaxaca con mayores valores que Sinaloa. Los valores de GSI altos (indicando eventos de maduración) suceden en octubre y abril con GSI=6 y 4, respectivamente para Oaxaca, mientras para Sinaloa es 1.5 y 1.

LITERATURA CITADA

- Abadia-Chanona QY, Avila-Poveda O H, Arellano-Martínez M, B. P. Ceballos-Vázquez. 2016. Observation and establishment of the gonad development stages in Polyplacophora (Mollusca): Chiton (*Chiton*) *articulatus*, a case study. *Acta Zoológica* 97:506-521. doi: 10.1111/azo.12165
- Abadia-Chanona, Q. Y., Avila-Poveda, O. H., Arellano-Martinez, M., Ceballos-Vazquez, B. P., Benitez-Villalobos, F., Parker, G. A., Garcia-Ibañez, S. 2018. Reproductive traits and relative gonad expenditure of the sexes of the free spawning *Chiton articulatus* (Mollusca: Polyplacophora). *Invertebrate Reproduction & Development* 62: 268-289. ISSN: 0792-4259. doi.org/10.1080/07924259.2018.1514670.
- Avila-Poveda, O. H. 2013. Annual change in morphometry and in somatic and reproductive indices of *Chiton articulatus* adults (Polyplacophora: Chitinidae) from Oaxaca, Mexican Pacific. *American Malacological Bulletin*. 31:65–74. doi.org/10.4003/006.031.0118.
- Barbosa SS, Byrne M, Kelaher BP. 2009. Reproductive periodicity of the tropical intertidal chiton *Acanthopleura gemmate* at one tree island, Great Barrier Reef, near its southern latitudinal limit. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 89:405–411.

- Collin, R., Ochoa, I. 2016. Influence of seasonal environmental variation on the reproduction of four tropical marine gastropods. *Marine Ecology Progress Series*, 555, 125-139.
- García-Ibáñez, S., Flores-Garza, R., Flores-Rodríguez, P., & Arana-Salvador, D. G. (2012). Los quitones o cucarachas de mar (Mollusca: Polyplacophora): Una perspectiva de su diversidad biológica y manejo sostenible. *Revista FOMIX Guerrero*, 1, 17-22.
- Giese AC, Tucker JS, Boolootian RA. 1959. Annual reproductive cycles of the chitons, *Katherina tunicata* and *Mopalia hindsi*. *Biol Bull.* 117:81–88.
- Himmelman JH. 1979. Factors regulating the reproductive cycle of two northeast Pacific chitons. *Tonicella Lineata* and *T. Insignis* *Marine Biology.* 50:215–222.
- Ishiyama-C V, Shiga-O B, Huaman-M P. 1994. Reproducción *Enoplochiton niger* (Mollusca, Polyplacophora) de la playa de San Bartolo, Lima, Perú. *Boletín De Lima.* 91–96:69–74.
- Knack de Almeida, H., Giménez, J. 2018. Gonad characterization and reproductive seasonality in *Siphonaria lessonii* (Gastropoda: Heterobranchia) from the southwestern Atlantic Ocean. *Invertebrate Biology*, 137: 264-277.
- Lester, S. E., Gaines, S. D., & Kinlan, B. P. 2007. Reproduction on the edge: large-scale patterns of individual performance in a marine invertebrate. *Ecology*, 88: 2229-2239.
- Olea-de la Cruz, F. G., García-Ibáñez, S., Flores-Garza, R., Flores-Rodríguez, P., & Rojas-Herrera, A. A. 2013. Pesca, oferta y demanda de la cucaracha de mar *Chiton articulatus* (Mollusca: Polyplacophora) en aguas de la zona costera del estado de Guerrero, México. *Ciencia Pesquera.* 21:69-81.
- Pearse, J. S. 1968. Patterns of reproductive periodicities in four species of Indo-Pacific echinoderms. *Springer India.* 67:247-279.
- Sanford, E., Kelly, M. W. 2011. Local adaptation in marine invertebrates. *Annual Review of Marine Science.* 3: 509-535.

Agradecimientos

Las colectas se llevaron a cabo bajo las regulaciones de la Ley Mexicana con el permiso de investigación No. PPF/DGOPA-130/15 otorgado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) a través de la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). Esta investigación se hizo gracias al apoyo de la Facultad de Ciencias del Mar, a la Universidad Autónoma de Sinaloa y al programa Cátedras CONACYT.

EVALUACIÓN DE CUATRO PROGRAMAS NUTRIMENTALES EN DOS CULTIVARES INDUSTRIALES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.)

Luis Andrés Beltrán Lucas^{1*}, Gabriel Antonio Lugo-García¹, Jorge Luis Flores Sánchez², Carlos Patricio Saucedo Acosta¹, Anastacio Pérez Mayorquín¹

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. 81110. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa.²Especialista en nutrición de cultivo de papa en el Depto. de Desarrollo e Investigación en YARA. luisandresbeltran1902@gmail.com

RESUMEN.

La papa es la principal fuente de alimentación a nivel mundial después del trigo, maíz y arroz. En México se siembran 65,000 ha⁻¹ de papa, con un rendimiento promedio de 27 ton/ha⁻¹ y una producción anual de 1,751,000 t¹. Sinaloa es el principal productor con el 23% de la superficie. Este cultivo demanda diversos nutrientes, como nitrógeno (N), fósforo (P), y potasio (K) durante su ciclo, lo que incrementa los costos de producción, además de alto número de aplicaciones de productos químicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de cuatro tratamientos de nutrición balanceada en el rendimiento y calidad de producción de dos variedades industriales de papa. Se utilizaron las variedades FL-1867 y Atlantic, los tratamientos utilizados fueron Y1: 194-122-225-27-36-94 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S respectivamente, Y2: 250-129-248-27-91-101 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S, Y3: 280-137-280-28-162-110 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S y testigo: 280-169-206-17-25-89 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S con un diseño completamente al azar. Las dos variedades presentaron un incremento en el rendimiento con el primer tratamiento, donde FL-1867 tuvo un rendimiento de 40.9 ton/ha⁻¹, mientras que Atlantic 38.1 ton/ha⁻¹, por lo tanto, es posible incrementar los rendimientos aplicando nutrientes químicos balanceados.

Palabras clave: papa, nutrición, balanceada, variedades.

ABSTRAC

The potato is the main source of food worldwide after wheat, corn and rice. In Mexico, 65,000 ha⁻¹ of potatoes are planted, with an average yield of 27 tons/ha⁻¹ and an annual production of 1,751,000 t¹. Sinaloa is the main producer with 23% of the surface. This crop demands diverse nutrients, such as nitrogen (N), phosphorus (P), and potassium (K) during its cycle, which increases production costs, in addition to a high number of applications of chemical products. The objective of this study was to evaluate the effect of four balanced nutrition treatments on the yield and quality of production of two industrial potato varieties. The varieties FL-1867 and Atlantic were used, the treatments used were Y1: 194-122-225-27-36-94 units/ha⁻¹ NPK-Mg-Ca-S respectively, Y2: 250-129-248-27 -91-101 units/ha⁻¹ NPK-Mg-Ca-S, Y3: 280-137-280-28-162-110 units/ha⁻¹ NPK-Mg-Ca-S and control: 280-169-206 -17-25-89 units/ha⁻¹ NPK-Mg-Ca-S with a completely random design. The two varieties showed an increase in yield with the first treatment, where FL-1867 had a yield of 40.9 tons/ha⁻¹, while Atlantic 38.1 tons/ha⁻¹, therefore, it is possible to increase yields by applying nutrients chemical balanced.

Keywords: potato, nutrition, balanced, varieties.

INTRODUCCIÓN.

En México, Sinaloa es el principal productor de papa (*Solanum tuberosum* L.); que en el ciclo otoño invierno 2015-2016 se sembraron 60,875 ha⁻¹ y se cosecharon 1,629,938 t. En Sinaloa el potencial productivo de la papa es superior a 20 t ha⁻¹, y aunque algunos productores llegan a superar 40 t/ha⁻¹ (SAGARPA-SICDE, 2016). La principal limitante de este cultivo son los elevados costos de producción, ya que este cultivo demanda sistemas de riego tecnificados, semilla de calidad, manejo fitosanitario intensivo y altas cantidades de nutrientes como nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg) (White *et al.*, 2007), ya que para una producción de 20 ton/ha, se requieren 220, 20, 240, 60 y 20 unidades/ha de N, P, K, Ca y Mg respectivamente (Bertsch, 2003).

La absorción de (N) ocurre en el desarrollo de la planta y crecimiento del tubérculo lo que, incrementa el rendimiento y tamaño de tubérculo ya que Arsenault y Cristie, (2004) y Lynch *et al.*, (2001), reportaron que la semilla-tubérculo de mayor tamaño produce mayor número de tallos y tubérculos por planta, los cuales son útiles como un pronóstico rápido de incremento del rendimiento, sin embargo, el aumento en el número de tallos puede reducir el rendimiento ya que se incrementa la cantidad de tubérculos pequeños. Asimismo, la respuesta de la fertilización en papa presenta resultados interesantes que dificultan tener una conclusión general sobre la respuesta a la fertilización balanceada, esto porque los rendimientos medios del cultivo continúan aumentando hacia los límites máximos de rendimiento potencial en el estado de Sinaloa, lo cual puede deberse al efecto en el contenido de materia orgánica del suelo y a los procesos biológicos que influyen en la fertilidad del suelo en una variedad de formas, cada una de las cuales puede tener un efecto de mejora en las principales limitaciones de la productividad (White *et al.*, 2007; Sifuentes *et al.*, 2013).

Adicionalmente, los mercados de destino de producción de papa: industria y consumo fresco, establecen parámetros de calidad del producto, los cuales en la mayoría de los casos son castigados con reducción en el pago de la cosecha. Algunos de estos son mermas por baja calidad, malformación de tubérculos, baja vida de poscosecha, pudriciones, entre otras. Sifuentes *et al.*, 2013, menciona que una estrategia eficiente para mejorar la calidad de la producción es el uso de una nutrición balanceada que permita a las plantas estar bajo el menor estrés posible y utilizar el máximo potencial productivo y de calidad.

HIPÓTESIS.

El balance nutrimental en el desarrollo del cultivo de papa con fuentes estables y eficientes de nutrientes tienen un efecto positivo en el rendimiento y calidad de la producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio se realizó en el ciclo otoño-invierno 2017-2018, en un lote de 11 has establecido en Agrícola Ocalle (25°42'37.27" N y 108°44'45.84" O, 25 msnm) localizada en Adolfo Ruiz Cortines, Guasave, Sinaloa. El clima dominante es el BW (h')w(e'), un clima muy seco, con temperatura media anual de 22 °C, con lluvias en verano y temperaturas extremas de 41 °C.

Variedades

Se utilizaron las variedades de papa FL-1867 y Atlantic (Cuadro 1), las cuales tiene tolerancia a bajos niveles de fertilización, tamaño adecuado para su consumo en chips y altos rendimientos en el norte de Sinaloa.

Cuadro 1. Características principales de las variedades de papa cultivadas en el norte de Sinaloa, México (Fundación produce Sinaloa, 2008).

Variedad	Origen	Habito de crecimiento	Días a madurez	Rendimiento	Porcentaje de sólidos
Atlantic	E.U.A.	Semierecto	90	25-30 t/ha	18.5
FL-1867	Cuba	Erecto	120	28-35 t/ha	19.5

Tratamientos

Los tratamientos utilizados fueron Y1: 194-122-225-27-36-94 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S respectivamente, Y2: 250-129-248-27-91-101 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S, Y3: 280-137-280-28-162-110 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S y testigo: 280-169-206-17-25-89 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S.

Las dos variedades de papa se establecieron con dosis base para el testigo de 195 kg/ ha⁻¹ de urea, 255 kg/ ha⁻¹ de SOP, 300 kg/ ha⁻¹ de MAP, 150 kg/ ha⁻¹ de Kmag, 20 kg/ ha⁻¹ de Sulfato de Zinc, 14 kg/ ha⁻¹ de grop boronat y 25 kg/ ha⁻¹ de carbomax.

En la escarificación para el testigo se aplicó 20 L/ ha⁻¹ de 8-24-0 y 30 L/ ha⁻¹ de Ncal y en los tratamientos Y1, Y2 y Y3, se aplicaron 1000 kg/ ha⁻¹ de YaraMila COMPLEX (12-11-18-8-2.7-0.015-0.2-0.02-0.02% de N-P-K-S-MgO-B-Fe-Mn-Zn respectivamente), en T2 se aplicó 200 kg/ ha⁻¹ y T3 400 kg/ ha⁻¹ de YaraLiva Nitabor (15.4-25.5-0.3 % de N-CaO-B respectivamente).

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial con dos variedades, cuatro tratamientos y tres repeticiones. Cada unidad experimental estuvo representada por 60 surcos de 0.9 m de separación entre surco por 80 m de largo siendo 0.85 ha por cada unidad.

Método de muestreo

Para la evaluación de las variables respuestas se utilizó un muestreo sistemático aleatorio, se registraron datos a los 35 dds, donde se tomaron tres muestras al azar en zig-zag en cada unidad experimental, cada muestra fue de tres metros lineales, se dejó un margen de cinco metros en cada lado de todas las unidades experimentales para eliminar el efecto orilla.

Variables valuadas

A los 35 dds, se contabilizó los tubérculos madre al igual que el número de tallos por metro, se tomaron tres plantas de cada unidad experimental para obtener datos de volumen y longitud de raíz, número de tubérculos y altura de planta. Para medir la longitud de raíz y altura de planta se utilizó una cinta métrica, y para el volumen de raíz se utilizó un vaso de precipitado graduado de 3000 ml, el cual se aforó a 2500 ml con agua purificada, se puso la raíz en el interior tomando como resultado el volumen aumentado en el vaso (peso volumétrico). Para el número de tubérculos se contabilizaron los que ya estaban formados y los estolones hinchados que estén en proceso de formación. Para evaluar la concentración de nutrientes se tomó muestras del tejido que se analizaron en un laboratorio comercial para determinar la cantidad de nutrientes presentes.

Rendimiento y calidad de tubérculos

A los 118 días se cosechó y se determinó el rendimiento y calidad de los tubérculos (peso, tamaño y cantidad de sólidos,), para lo cual se tomó una muestra de un metro lineal en cada unidad experimental para obtener los tubérculos que serían sometidos a un lavado para quitar la tierra que se encontraba adherida y posteriormente se clasificaron por categorías.

Análisis de datos

Los datos fueron analizados con un ANOVA y prueba de comparación de medias (Tukey <0.05). el software estadístico S.A.S. versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Evaluación a los 35 dds

Se evaluó altura de planta, número de tubérculos, longitud de raíz y volumen de raíz. El cultivar FL-1867 (figura 1) no se presenta diferencias significativas (Tukey, $p<0.05$) en relación a la altura de planta en relación con el testigo (64.5 cm) y los tratamientos Y1 (64 cm), Y3 (63.3 cm) y Y2 (62.5 cm) a pesar de las diferencias entre las dosis aplicadas de nitrógeno. En la formación de tubérculos (Figura 2) los tratamientos Y3 (103), Y2 (99.6) y Y1 (95.3) son iguales entre ellos estadísticamente hablando pero son mejores que el testigo (79.3), esto indica que con menor unidades de fósforo (122 a 137 u/ha^{-1}) se obtienen mayor números de tubérculos por planta (testigo: 169 u/ha^{-1}). Con respecto a la variable longitud de raíz (Figura 3), todos los tratamientos son semejantes, ya que no presentaron diferencia significativa entre ellos, donde el testigo obtuvo 38.1 cm, Y1: 36.5, Y2: 36.4 y Y3: 33.5. En volumen de raíz (Figura 4) los tratamientos Y3 (145.5 g), Y2 (141.1 g) y testigo (118.8 g) estadísticamente son iguales pero son diferentes a Y1 (112.2 g).

En el cultivar Atlantic todos los tratamientos son estadísticamente iguales en cuanto a altura de planta (Figura 1), a pesar de que el testigo presentó 75.5 cm, Y1 74.4 cm, Y2 72 cm y Y3 69.7 cm. En el número de tubérculos (Figura 2) los tratamientos Y3 y Y1 fueron mejores con 79.6 y 77 tubérculos por planta respectivamente, seguidos por Y2 y testigo con 70.3 y 69 tubérculos respectivamente. La longitud de raíz (Figura 3) fue similar en cada tratamiento no habiendo diferencias estadísticamente, Y1 presentó 35.3 cm, testigo 34.7 cm, Y2 34.4 cm y Y3 33.1 cm. En la Figura 4 se muestra el volumen de raíz de cada tratamiento, donde Y3 fue el mejor con 176.7 g, seguido por Y1 con 161.1 gr, luego Y2 con 156.7 g y por último el testigo con 135.6 g.

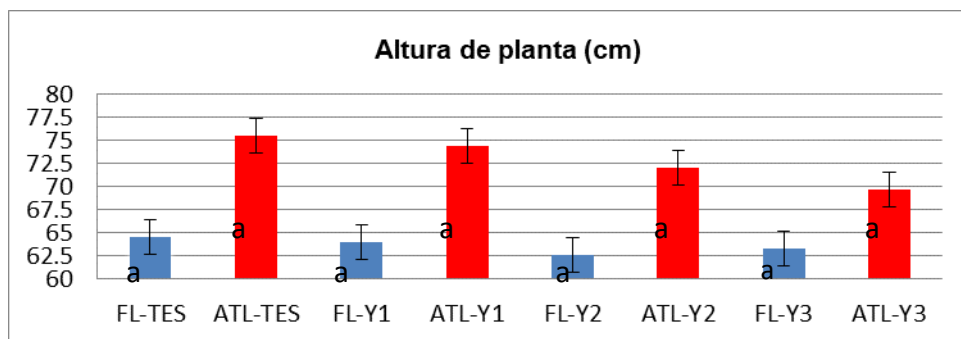


Figura 1. Altura de planta en los cultivares FL-1867 (en azul) y Atlantic (rojo) a 35 dds.

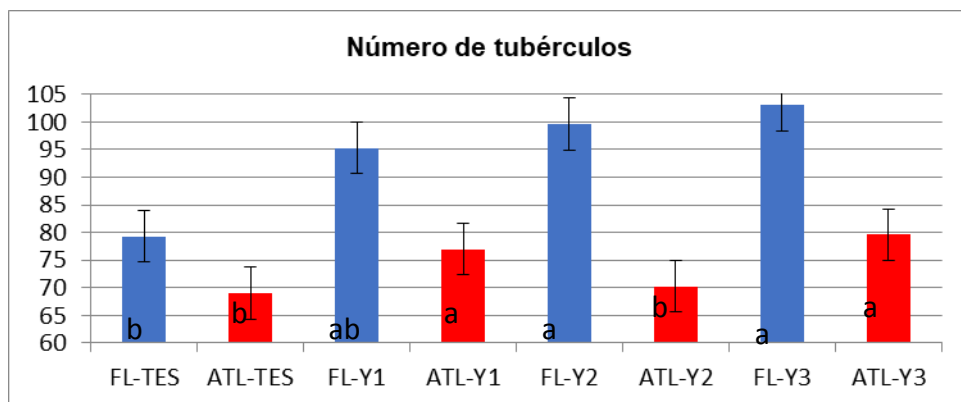


Figura 2. Número de tubérculos a los 35 dds en FL-1867 (azul) y Atlantic (rojo).

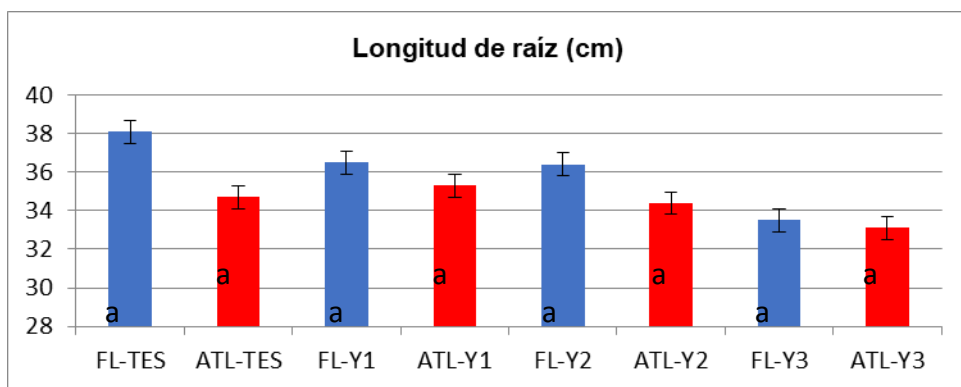


Figura 3. Longitud de raíz a los 35 dds en FL-1867 (azul) y Atlantic (rojo).

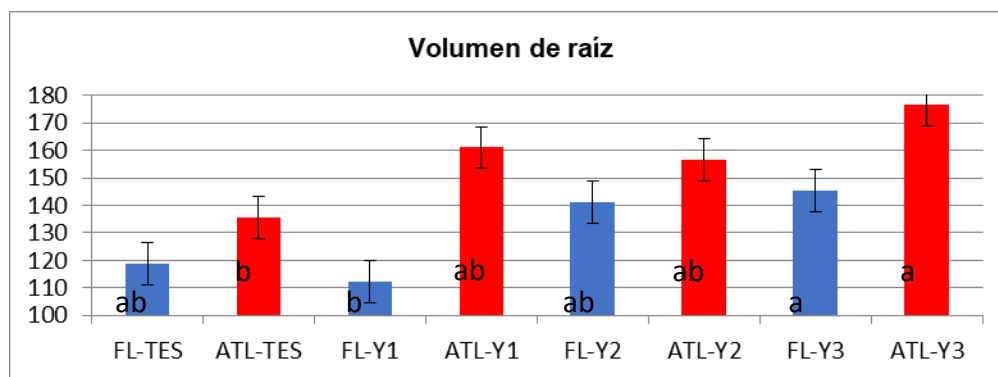


Figura 4. Volumen de raíz a los 35 dds en FL-1867 (azul) y Atlantic (rojo).

En la variedad FL-1867 el testigo presentó mayor altura, pero menor número de tubérculos, pero estos de mayor tamaño, lo que coincide con Echeverría (2005) y Goffart *et al.*, (2008) quienes indican que el nitrógeno promueve la organogénesis y el control del crecimiento del follaje y favorece la producción de tubérculos de mayor tamaño, sin embargo, en dosis excesivas puede provocar un desarrollo excesivo de la parte aérea, retraso o disminución en la tuberización y además de un aumento de la concentración de nitratos en las aguas superficiales y subterráneas llegando a representar un serio problema. El tratamiento Y3 presentó mayor número de tubérculos, pero menor longitud de raíz y a la vez mayor volumen de esta, se puede observar que la mayor parte del P disponible se utilizó para la formación de tubérculos (Schachtman *et al.*, 1998) por lo cual aumentó el volumen de la raíz y disminuyó la longitud de esta (Oyarzún *et al.*, 2002). Esto se apega con lo reportado por Guerrero (1998) donde dice que los requerimiento de este nutriente oscilan entre 40 y 100 kg/ha, lo cual dependerá de factores como las características físicas-químicas del suelo y las genéticas de la variedad.

En la variedad Atlantic el testigo presentó mayor altura de planta y se vio afectado el número de tubérculos y por consiguiente presentó menor volumen de raíz, lo que coincide por lo reportado por Echeverría, 2005; Goffart *et al.*, 2008. Los tratamientos Y1, Y2 y Y3 actuaron de manera equilibrada en cada una de las variables evaluadas.

Rendimiento y calidad de la cosecha.

En la figura 5, se observan los rendimientos obtenidos en el cultivar FL-1867, los tratamientos Y1 y Y2 fueron los que mejores rendimientos presentaron con 40.9 y 40.8 ton/ha⁻¹ respectivamente siendo estadísticamente iguales con la prueba de Tukey ($p < 0.05$), mientras que Y3 y testigo presentaron menores rendimientos 39.9 y 39.7 ton/ha⁻¹. El tratamiento con mayor rendimiento fue (Y1) y el menor rendimiento (testigo), donde se presentó una diferencia de 1.2 ton/ha⁻¹ llegando a producir más con menos nutrientes ya que la dosis del tratamiento Y1 fue: 194-122-225-27-36-94 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S respectivamente y testigo: 280-169-206-17-25-89 unidades/ha⁻¹ N-P-K-Mg-Ca-S llegando a utilizar un 44 y 38% menos de N-P con lo cual se puede reducir los costos de producción .

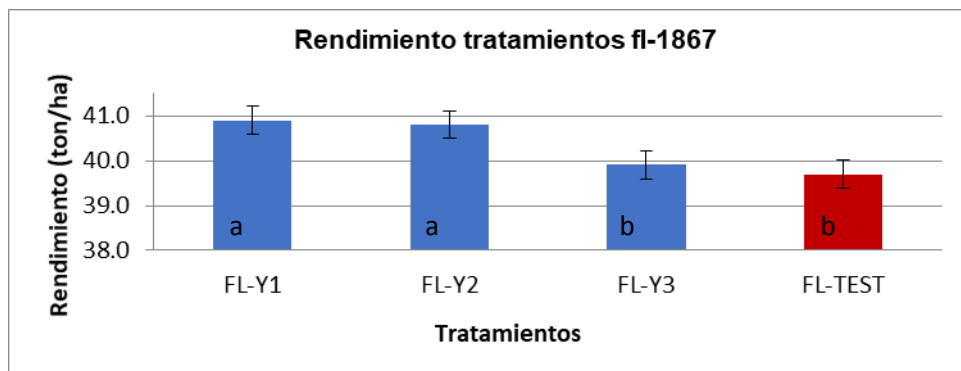


Figura 5. Rendimientos obtenidos de los cuatro tratamientos en la variedad FL-1867. Los tratamientos que comparten la misma letra son iguales estadísticamente (Tukey <math><0.05</math>).

Sifuentes y Macías (2014) reportan que la variedad Atlantic requiere un mínimo de 187-15-256 y un máximo de 226-19-430 de N-P-K para el Valle del Fuerte por lo tanto Y1 está dentro del rango reportado, a excepción del P el cual se suministró en mayor cantidad. Bertsch (2003), reporta que para una producción de 20 ton/ha, se requieren 220, 20, 240, 60 y 20 unidades/ha⁻¹ de N, P, K, Ca y Mg respectivamente, esto dependerá de las condiciones físico-químicas del suelo y de las características genéticas de la variedad (Guerrero, 1998).

A continuación en la Figura 6 se presenta los rendimientos obtenidos de los tratamientos de la variedad Atlantic. Los tratamientos Y1, Y2 y Y3 son estadísticamente iguales entre sí con la prueba de Tukey ($p<0.05$) teniendo un rendimiento de 38.1, 38 y 37.7 ton/ha⁻¹ respectivamente; mientras que en el testigo fue menor con 36.7 ton/ha⁻¹ habiendo un margen de 1.4 ton/ha⁻¹ con Y1 que presentó mayor rendimiento. Al igual que con la variedad fl-1867 se logró obtener mayor rendimiento con menos dosis de nutrientes.

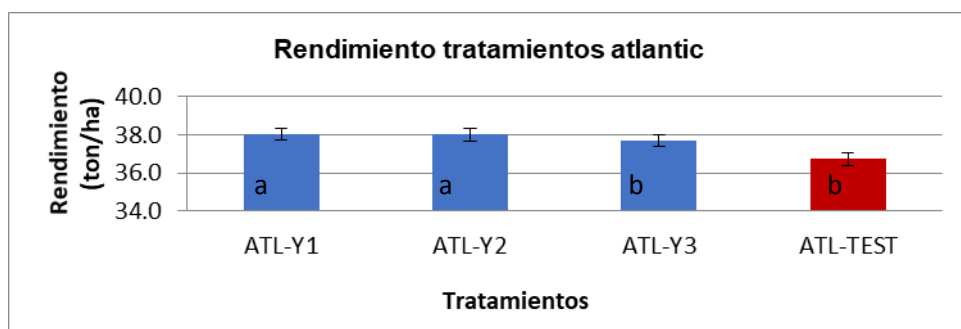


Figura 6. Rendimientos obtenidos de los cuatro tratamientos en la variedad Atlantic. Los tratamientos que tienen la misma letra son iguales entre sí.

Sifuentes y Macías (2014) reportan que la variedad fl-1867 requiere un mínimo de 171-11-203 y un máximo de 186-19-407 unidades de N-P-K para el valle del fuerte, con lo cual se asemeja la dosis del tratamiento Y1. Estos resultados se asemejan con los obtenidos por Sifuentes *et al.*, (2013) con la variedad Fianna con una dosis de 245-30-350 kg/ha⁻¹ de N-P-K donde estimaron un valor de rendimiento de 37.33 ton/ha⁻¹. Marouani & Harbeoui (2016), establecen que para incrementar la eficiencia de uso de N es necesario disponer de

programas de fertilización adecuados y aplicar riego frecuente con dosis bajas de N. Lo anterior unido al desarrollo genético de variedades capaces de utilizar N con mayor eficiencia además tener un mejor control el control del crecimiento del follaje y así favorecer la producción de tubérculos de mayor tamaño (Echeverría, 2005). En cuanto al P que es requerido en dosis altas debido a que en se encuentra poco disponible en el suelo (Schachtman *et al.*, 1998), con dosis adecuadas promueve el crecimiento de las raíces y acelera la formación de tubérculos, por lo que es un elemento el cual debe estar disponible para la planta en el periodo inicial de desarrollo y durante la formación de tubérculos (Oyarzún *et al.*, 2002).

En la Figura 7 se muestra el porcentaje de las categorías obtenido en cada uno de los tratamientos con la variedad FL-1867. El tratamiento Y2 fue el que obtuvo el mayor cantidad de primeras con 16% seguido por Y1 con 15%, Y3 13% y por último el testigo con un 6%. En la categoría de segundas Y2 tuvo un 53%, Y1 y Y3 tuvieron un 51% y el testigo un 44%. Por último en la categoría de cuartas el testigo fue el que presentó el mayor porcentaje con 28%, seguido por Y2 y Y3 con un 14% cada uno y Y1 presentó un 13%.

De manera similar Y1, Y2 y Y3 su rendimiento recae más en la obtención de segundas, seguido de terceras, primeras y en cuartas en proporción similar. En cambio testigo tiende a producir más segundas, cuartas, terceras y en menor medida primeras.

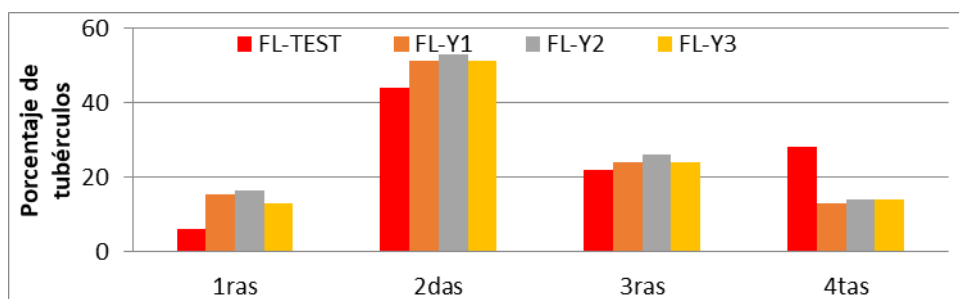


Figura 7. Porcentaje de las categorías obtenido en cada uno de los tratamientos con la variedad FL-1867.

Los resultados obtenidos para la variedad Atlantic se observan en la Figura 8. El tratamiento Y3 presentó la mayor cantidad de primeras con 23% seguido de Y2 con un 20%, Y1 con 18% y el testigo con 12%. En la categoría de segundas Y2 presentó el mayor resultado 48%, seguido de Y1 y Y3 con 46% y testigo con 40%. En las terceras Y2 fue el que presentó más con un 26%, Y1 con 25%, Y3 con 23% y testigo con 22%. En la categoría de cuartas el testigo presentó un 26%, Y1 con 11%, Y3 con 8% y Y2 con 6%.

Los tratamientos Y1, Y2 y Y3 concentran su mayor rendimiento en la formación de tubérculos de segunda, seguido por terceras, primeras y en menor proporción en la obtención de cuartas. En cambio el testigo también produce más tubérculos de segunda pero después se obtienen más de categoría de cuartas que terceras y primeras.

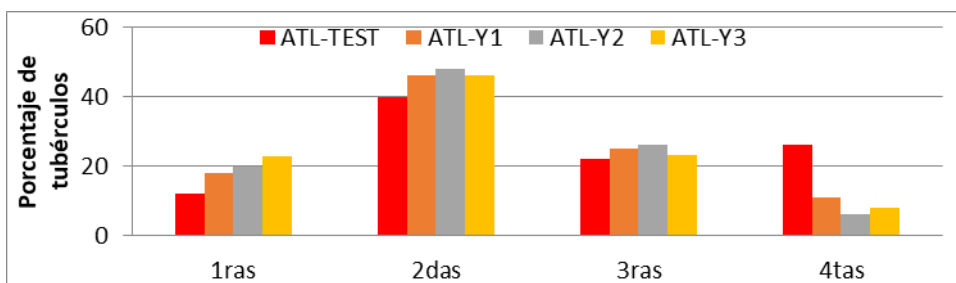


Figura 8. Porcentaje de las categorías obtenido en cada uno de los tratamientos con la variedad Atlantic.

LITERATURA CITADA.

Aghdam M.S., Hassanpouraghdam M.B., Paliyath G., Farmani B. 2012. The language of calcium in postharvest life of fruits, vegetables and flowers. *Scientia Horticulturae*. 144 (Supplement C): 102–15. doi:10.1016/j.scienta.2012.07.007

Agusti M. *Fruticultura*. 2010. 2nd ed. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa; 507 p

Arsenault, W. J.; Cristie, B. R. 2004. Effect of whole seed tuber size and pre-plant storage conditions on yield and tuber size distribution of Russet Burbank. *American Journal of Potato Research* 81: 371-376.

Barry GH, Bower JP. 1997. Manipulation of fruit set and stylar-end fruit split in 'Nova' mandarin hybrid. *Scientia Horticulturae*. 70(2–3):243–50. doi:10.1016/S0304-4238(97)00025-3

Bertsch, F. 2003. Absorción de nutrimentos por los cultivos. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. San José, Costa Rica. 307p

Castro, H. 2005. Balance y prospectiva de la investigación en el campo de la fertilización para el sistema de producción de papa en Colombia. pp 31-43. En: Memorias. I Taller Nacional sobre suelos, fisiología y nutrición vegetal en el cultivo de la papa. Centro Virtual de Investigación de la Cadena Agroalimentaria de la Papa (CEVIPAPA). Bogotá, Colombia.

Ciccarese, A., Stellacci, A.M., Gentileco, G., Rubino, P. 2013. Effectiveness of pre- and post-veraison calcium applications to control decay and maintain table grape fruit quality during storage. *Postharvest Biology and Technology*. 75 (Supplement C):135–41. doi:10.1016/j.postharvbio.2012.08.010

Echeverría, H. E. 2005. Papa. *Fertilidad de suelos y fertilización de cultivos*. En: Echeverría, H. E.; y García, F.O (eds.). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires. Argentina. p. 365 - 378.

Fundación Produce Sinaloa. 2008. Nuevas variedades de papa en el norte de Sinaloa. (Consulta, diciembre 2017).

- Goffart, J. P.; Olivier, M.; y Frankinet, M. 2008. Potato crop nitrogen status assessment to improve N fertilization management and efficiency. Past-Present- Future. *Potato Res.* 51:355 - 383.
- Guerrero, R. 1998. Fertilización de cultivos de clima frío. 2da edición. Monómeros Colombo Venezolanos. Santa Fe de Bogotá. 425.
- Guerrero, R. 1998. La Fertilización con Azufre para el Cultivo de la Papa en Colombia. Fertilización de Cultivos de Clima Frío. Segunda Edición. Monómeros Colombo Venezolanos, Colombia. 370 p.
- Guerrero, R., Montenegro, G.V. 1994. Respuesta de la papa (*Solanum tuberosum*, L.) var. "Parda Pastusa" al reabonamiento con nitrógeno y azufre en Andisoles del Altiplano de Pasto y la sabana de Túquerres, Nariño. *Suelos Ecuatoriales*, 24:13-16.
- Guerrero, R., Montenegro V.Y., Ross M. 2000. Fertilización con Magnesio para más y mejores rendimientos en papa. En: *Papas Colombianas 2000*. Revista ventana al campo andino. Vol.3 N° 1-2. pp. 96-99.
- Horneck, D. & Rosen, C. 2008. Measuring nutrients accumulation rates of potatoes too for better management. 92:1- 4.
- Inostroza, J., Méndez, P. y Sotomayor L. 2009. Botánica y morfología de la papa. Manual de papa para la Araucanía: manejo y plantación. Instituto de investigaciones Agropecuarias (INIA), Ministerio de Agricultura de Chile. Boletín INIA N° 193. 7-14 pp.
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). S/f. Las papas nativas y su importancia en la salud y alimentación. Disponible en: www.iniap.gob. (Consulta, noviembre 2017).
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2000. Manual para la producción de papa en las sierras y valles altos del centro de México. Libro técnico N° 1, División agrícola.
- Lora, R. 2001. Los elementos secundarios Ca, Mg, S y el Silicio en la Agricultura. Bogotá: S.C.C.S cap. Cundinamarca. 176 p.
- Lynch D., R.; Kozub, G. C.; Kawchuk, L. M. 2001. The relationship between yield, mainstem number, and tuber number in five maincrop and two early-maturing cultivars. *American Journal of Potato Research* 78: 83-90.
- Marouani, Amel & Harbeoui, Youcef. 2016. Eficiencia de uso de nitrógeno en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Agronómica*, [S.l.], v. 65, n. 2, p. 164 - 169, abr. 2016. ISSN 2323-0118.
- Morales H. J. L., J. Hernández M. y S. Rebollar R. 2013. Rendimiento de papa con fuentes de fertilización mineral en un Andosol del Estado de México. *Ciencias Agrícolas*. 4(6):881-893 p.

Nandasena K., Yates R., Tiwari R., O'Hara G., Howieson J., Ninawi M., Chertkov O., Detter C., Tapia R., Han S., Woyke T., Pitluck S., Nolan M., Land M., Liolios K., Pati A., Copeland A., Kyrpides N., Ivanova N., Goodwin L., Meenakshi U. and Reeve W. 2014. Complete genome sequence of *Mesorhizobium ciceri* bv. *biserrulae* type strain (WSM1271T). Standards in Genomic Sciences. 9(3): 462-472. doi: 10.4056/sigs.4458283.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Historia de la papa. 2008. www.fao.org. (Consulta, Noviembre 2017).

Oyarzún, P., F. Chamorro, J. Córdova, F. Merino, F. Valverde y J. Velázquez. 2002. El cultivo de la papa en Ecuador. Manejo agronómico. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) – Centro Internacional de la Papa (CIP). 3(1):51-84.

Palacios J. Citricultura. 2005. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur. 518 p.

Paniagua, A.C., East, A.R., Hindmarsh, J.P., Heyes, J.A. 2013. Moisture loss is the major cause of firmness change during postharvest storage of blueberry. Postharvest Biology and Technology. 79:13–9. doi:10.1016/j. postharvbio.2012.12.016

Pérez, D. J., Gómez, T.M., González, A., Franco, O., Rubí, M., Gutiérrez, F. y Serrato, R. 2013. Calidad de plántula en cinco cultivares de papa determinada por la intensidad de luz blanca y tipo de propagación. Ciencia Ergo Sum, vol. 20, núm. 2, julio-octubre, 2013, pp. 138-147.

Schachtman, D. P., R. J. Reid y S. M. Ayling. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. Plant Physiol 116(1):447- 453.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA:SICDE). 2016. El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). www.sicde.gob.mx (Consulta noviembre 2017).

Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). 2009. Producción de semilla de papa en Baja California. www.oeidrus-bc.gob.mx (Consulta diciembre 2017).

Sifuentes, E. y Macías, J. 2014. Requerimientos nutricionales de las principales variedades de papa en Sinaloa. SAGARPA-FPS-INIFAP. Ficha técnica. Junio, 2014.

Sifuentes, E., Ojeda, W., Mendoza, C., Macías, J., Rúelas, J. R. & Inzunza., M. A. 2013. Nutrición del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) considerando variabilidad climática en el “Valle del Fuerte” Sinaloa, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol. 4. 585-597 p.

Spangberg, J., Hansson, P.A., Tidakerb, P. and Jonsson, H. 2011. Environmental impact of meat meal fertilizer vs. chemical fertilizer. Res. Conserv. Recyc. 55:1078-1086.

White, P. J.; Whcatley, R. E; Hammond, J. P and Zhang, K. 2007. Minerals, Soils and roots. In: Vreugdenhil, D. (ed.). Potato biology and biotechnology, advances and perspectives. Elsevier Amtersdan. 739-752 p.

Yfran, M, Chabbal, M.D., Píccoli, A., Giménez, L.I, Rodríguez, V.A., y Martínez, G.C. 2017. Fertilización foliar con potasio, calcio y boro. Incidencia sobre la nutrición y calidad de frutos en mandarino nova. Cultivos Tropicales. vol. 38, no. 4, pp 22-29

CALIDAD DE LUZ EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL PEPINO Y SUS PATÓGENOS FUNGOSOS Norma Delia Zazueta Torres¹, Felipe Ayala Tafoya², Moisés Gilberto Yáñez Juárez², Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz², Tomas Díaz Valdés²

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias. ¹Agricultura Sustentable y Protegida, Universidad Tecnológica de Culiacán. ²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. E-mail: norma_zazueta2812@hotmail.com

RESUMEN

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Anatomía Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, para conocer la influencia de la calidad de luz sobre el crecimiento de plantas de pepino (*Cucumis sativus*), la severidad de la cenicilla (*Oídium* sp.) y el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* cultivado *in vitro*. Se sembraron semillas de pepino 'Poinsett 76' en charolas de poliestireno de 128 cavidades y cuando las plantas contaron con dos hojas verdaderas se trasplantaron a vasos de poliestireno de 500 mL. Tratamientos consistieron en luz blanca fría, neutra y cálida, emitidas por lámparas fluorescentes, con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (400 a 700 nm) de 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y se establecieron bajo un diseño completamente al azar con 12 repeticiones (plantas) y 10 repeticiones (caja petri). La luz blanca cálida promovió mayor crecimiento de plantas debido al mayor contenido de luz roja (600-700 nm), mientras que la luz blanca fría promovió mayores valores de diámetro de tallo y verdor foliar, con mayor contenido de luz azul (400-500 nm). La proporción de luz roja y azul, obtenida con las lámparas de luz blanca cálida y blanca fría, alteró el desarrollo del hongo, que se reflejó en una menor severidad de la cenicilla, así mismo ocasionó reducción en el crecimiento radial, biomasa y producción de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*.

Palabras claves: *Cucumis sativus*, *Oidium* sp., luz roja, luz azul.

ABSTRACT

The research was carried out in the Laboratory of Physiology and Vegetal Anatomy of the Faculty of Agronomy, Autonomous University of Sinaloa, in Culiacán, Sinaloa, to know the influence of light quality on the growth of cucumber plants (*Cucumis sativus*), severity of the ashtray (*Oidium* sp.) and the growth of *Sclerotium rolfsii* cultivated *in vitro*. Cucumber seeds 'Poinsett 76' were planted in 128-well polystyrene trays and when the plants had two true leaves they were transplanted into 500 ml polystyrene cups. Treatments consisted of cold, neutral and warm white light, emitted by fluorescent lamps, with a flux density of photosynthetic photons (400 to 700 nm) of 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and were established under a completely randomized design with 12 repetitions (plants) and 10 repetitions (petri dish). Warm white light promoted higher plant growth due to the higher red light content (600-700 nm), while cold white light promoted higher values of stem diameter and leaf verdure, with higher blue light content (400-500 nm). The proportion of red and blue light, obtained with cold white and warm white light lamps, altered the development of the fungus, which was reflected in a lower severity of the ashtray, likewise caused reduction in radial growth, biomass and sclerotia production of *Sclerotium rolfsii*.

Keywords: *Cucumis sativus*, *Oidium sp.*, Red light, blue light.

INTRODUCCIÓN

Las especies vegetales tienen la capacidad de responder de diferentes formas a la calidad de la luz, entendida esta como el color o la longitud de onda; a su intensidad, es decir, la densidad del flujo fotónico o irradiancia y a la combinación de ambas (Nguy-Robertson *et al.*, 2015). La calidad de la luz afecta el crecimiento, desarrollo y morfología de las plantas (Fukuda *et al.*, 2008). Las plantas utilizan luz desde 400 hasta 700 nm para realizar la fotosíntesis, conocida como radiación fotosintéticamente activa (RFA o PAR, por sus siglas en inglés) (Martin, 2010; Meisel *et al.*, 2011). Los órganos fotosintéticos de las plantas (hojas y tallos verdes) absorben más eficientemente los fotones en las franjas azul y roja del espectro de la radiación visible incidente, mientras que la absorción en la franja del verde y del infrarrojo es escasa, y la mayoría de estos fotones se reflejan como radiación difusa (Lazo y Ascencio, 2010).

Por ejemplo, el crecimiento del tallo ha mostrado estar influenciado por la relación R:FR de la luz (Fukuda *et al.*, 1993, 2002). La elongación del tallo en las plantas de tomate se inhibe más bajo luz amarilla (lámparas de sodio) que bajo la luz blanca (lámparas de halógeno) (Fukuda *et al.*, 1993). La forma de la hoja también es influenciada por la calidad de la luz, pues la baja relación R:FR modifica la morfología de hojas del trébol a través de aumentos en el área foliar (Heraut-Bron *et al.*, 2000; 2001). Mientras que en las plántulas de lechuga si el nivel de luz azul es bajo, las hojas se hacen largas y adquieren una forma estrecha (Honecke *et al.*, 1992). También el suministro de luz azul promovió el crecimiento de espinaca, rábano y lechuga bajo luz roja (Yorio *et al.*, 2001). Plántulas de tomate y pimiento crecidas bajo luz azul, sola o en combinación con luz roja, redujeron la altura de tallo (Javanmardi y Shandiz, 2013).

Cada especie vegetal y microorganismo fitopatógeno reacciona en forma diferente a los componentes espectrales del flujo luminoso (Avercheva *et al.*, 2009). Así, en la agricultura protegida las películas que transmiten más luz azul, han mostrado ser más eficaces para suprimir la esporulación de mildius y *Botrytis cinerea* (Reuveni y Raviv, 1992, 1997).

PROBLEMA CIENTÍFICO

La utilización de sistemas de iluminación artificial, con diferente composición espectral, para la producción en ambientes controlados es una oportunidad viable para mejorar los cultivos. Por tal motivo es importante investigar cómo influye el espectro luminoso de lámparas fluorescentes de luz blanca fría, neutra y cálida en el crecimiento de plantas de pepino y sus patógenos fúngicos.

HIPÓTESIS

El espectro electromagnético emitido por lámparas fluorescentes de luz blanca fría, neutra y cálida influye diferencialmente en las características del crecimiento de plantas de pepino y sus patógenos fungosos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que ocasiona la calidad espectral de luz emitida por lámparas fluorescentes sobre el crecimiento de plantas de pepino y esporulación *in vitro* y severidad de sus patógenos fungosos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la influencia calidad de luz sobre la morfología de las plantas de pepino.

Determinar el efecto de la calidad luz emitida por lámparas fluorescentes en la severidad de hongos foliares del cultivo de pepino.

Determinar el crecimiento y esporulación *in vitro* de hongos patógenos del pepino bajo las condiciones luminosas creadas por lámparas fluorescentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Anatomía Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, México. Se construyeron y utilizaron cámaras de crecimiento de 100 cm de largo por 70 cm de alto y 80 cm de fondo, con malla plástica de 16 x 10 hilos cristalinos por cm² en todos sus lados, con un sistema de iluminación con base en lámparas fluorescentes compactas, tipo espiral, de luz blanca fría, neutra y cálida (Figura 1). En mayo de 2017 se sembraron semillas de pepino 'Poinsett 76' en charolas de poliestireno de 128 cavidades y 15 días después de la siembra, cuando las plantas contaron con dos hojas verdaderas, se trasplantaron a vasos de poliestireno de 500 mL.



Figura 1. Producción de plantas de pepino en cámara de crecimiento con sistema de iluminación de lámparas fluorescentes de luz blanca fría (izquierda), neutra (centro) y cálida (derecha).

Los tratamientos de LBF (6500 K), LBN (4000 K) y LBC (2700 K), fueron ajustados a una intensidad cercana a los 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 2B) con un espectrorradiómetro (FieldSpec Pro®VNIR, Analytical Spectral Devices, EE.UU). Para lograr dicho ajuste se utilizaron nueve lámparas por tratamiento, donde el tratamiento de luz blanca fría constó de tres bombillas de 2140 lúmenes (32 W), tres bombillas de 1650 lúmenes (26W) y tres de 1180 lúmenes (20W); el tratamiento de luz blanca neutra constó de nueve lámparas de 1600 lúmenes (23W); y el tratamiento de luz blanca cálida de cuatro focos de 950 lúmenes (15W) y cinco de 2250 lúmenes (32W). La distribución espectral de la luz emitida por las lámparas (Figura 2A) y las cantidades absolutas, relativas y proporcionales de LA, LR y LRL emitidas por las lámparas fluorescentes (Cuadro 1 y la Figura 2B) variaron según el tipo de ellas.

Cuadro 1. Características espectrales de la luz emitida por lámparas fluorescentes compactas, tipo espiral, de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC).

Parámetros/tipo de lámpara	LBF	LBN	LBC
RFA (400-700 nm) ^x	306.40	305.25	294.37
LA (400-500 nm) ^x	84.19	64.87	44.24
LR (600-700 nm) ^x	81.34	100.44	118.03
LRL (700-800 nm) ^x	31.79	33.93	36.28
LA:RFA [(400-500/400-700 nm)*100] ^y	27.48	21.25	15.03
LR:RFA [(600-700/400-700 nm)*100] ^y	26.55	32.90	40.09
LA:LR (400-500/600-700 nm) ^z	1.04	0.65	0.37
LA:LRL (400-500/700-800 nm) ^z	2.65	1.91	1.22
LR:LA (600-700/400-500 nm) ^z	0.97	1.55	2.67
LR:LRL (600-700/700-800 nm) ^z	2.56	2.96	3.25

RFA=radiación fotosintéticamente activa. LA=luz azul. LR=luz roja. LRL=luz roja lejana. Cantidades absolutas^x ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relativas^y (%) y proporcionales^z (adimensional).

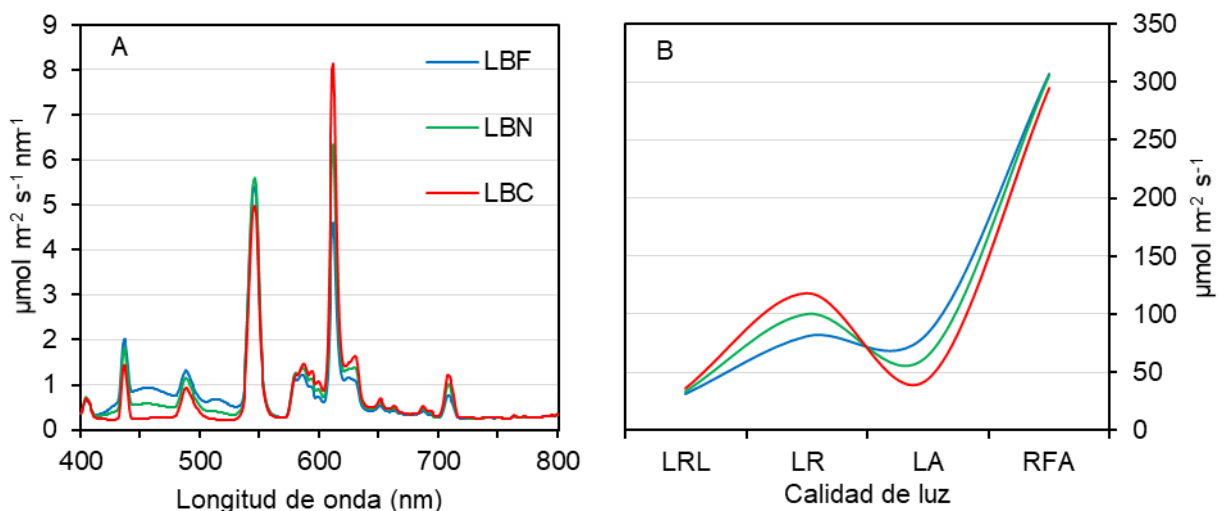


Figura 2. (A) Distribución espectral de la luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC), y (B) cantidad de radiación fotosintéticamente activa (RFA, 400-700 nm), luz azul (LA, 400-500 nm), luz roja (LR, 600-700 nm) y luz roja lejana (LRL, 700-800 nm).

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos y 12 repeticiones. Las variables de respuesta evaluadas fueron: altura de planta, medida con cinta métrica; diámetro de tallo, obtenido con calibrador digital (6MP, Truper Herramientas, México); verdor foliar, mediante un clorofilímetro (SPAD 502, Kónica Minolta, Japón); área foliar, obtenida con la fórmula $AF_{\text{hoja}} = (\text{Largo} \times \text{Ancho}) \times 0.851$, propuesta por Blanco y Follegati (2003); biomasa fresca y seca de hojas, tallo y raíz de las plantas, mediante balanza de precisión (CP622, Sartorius, Alemania), previo secado en horno (292, Felisa, México) a 70 °C, hasta peso seco constante.

La severidad de la cenicilla fue evaluada a 16, 23 y 30 días después de la inoculación, a través de la determinación visual del porcentaje de área foliar con síntomas de la enfermedad. La inoculación de las plantas se realizó utilizando la técnica de Gilchrist-Saavedra *et al.* (2005), mediante la aspersion foliar de una solución que contenía alrededor de 51,000 conidios de *Oidium* sp. por litro de agua; el inóculo primario se obtuvo de plantas de calabaza.

Para el experimento de *Sclerotium rolfsii* el patógeno primario se obtuvo de una planta huésped de chile (*Capsicum annuum*), la siembra y purificación del patógeno se realizó en medio PDA, a una temperatura de 28 °C. Las variables de respuesta fueron: crecimiento radial del hongo en medio PDA, el cual se midió cada 8 horas con un vernier digital (6MP, Truper Herramientas, México); producción de esclerocios, la cual se obtuvo contando de manera visual los esclerocios en cada caja Petri, después de 10 días de exponerlos a la luz; así como, la producción de biomasa del micelio, fue obtenida despejando el micelio del medio de cultivo, posteriormente fueron puestos en papel filtro, para depositarlos en una estufa de secado hasta un peso constante por 72 horas, y ser pesados en una báscula de precisión.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de cometer error, utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.0 y MINITAB 16.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre el crecimiento de plantas de pepino (Cuadro 1 y 2). Así, 7 días después de exponerlas a la luz (DEXL), la altura de las plantas que crecieron bajo el efecto de LBC, con mayor LR: RFA (40.9%) y LR: LA (2.67) fue superior en 21.26% con relación a la altura de las plantas que crecieron bajo LBF, con menor LR: RFA (26.55%) y LR: LA (0.97). Efectos semejantes se encontraron a los 17 y 38 DEXL, de tal forma que las plantas que recibieron mayor LR (LBC, $118.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fueron más altas en 17.43 y 36.46%, respectivamente, en comparación a la altura desarrollada por las plantas que recibieron menos LR (LBF, $81.34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Así mismo, la altura que presentaron las plantas que crecieron bajo mayor relación de LR: LA (LBN, 1.55), a los 17 y 38 DEXL fue superior en 14.84 y 17.23% con respecto a las plantas que crecieron bajo el efecto de mayor LA (Villar, 2016).

El diámetro de tallo tuvo una mayor expresión en las plantas que crecieron bajo el efecto de LBF, con mayor LA: RFA (27.48%) y LA: LR (1.04) ya que a los 7 y 38 DEXL superaron en 7.9 y 15.5% a las plantas que crecieron bajo LBC, con menor LA: LR (0.37), y de igual manera en 15.8 y 5.1% con relación al diámetro de tallo de las plantas que crecieron bajo el efecto de LBN con menos LA: LR (0.65). Similar fue el resultado para verdor de la hoja donde las plantas que recibieron el efecto de mas LA (LBF, $84.19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), obtuvieron la mayor concentración de verdor superando en 6.3 y 2.2% a los 17 DEXL a las plantas que recibieron menos LA (LBC y LBN: 44.24 y $64.87 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente); así mismo a los 38 DEXL el verdor de las plantas que crecieron bajo una alta relación LA:RFA (27.48%), fue superior en 8.3 y 3.6% con respecto al presentado por las plantas que crecieron bajo una menor relación de LA:RFA (LBC, 15.03% y LBN, 21.25%). Con respecto al órgano foliar, la calidad de luz originó modificaciones significativas; así, a los 7 DEXL el área foliar en las plantas que crecieron con mayor LR (LBC, $118.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue superior 27.88% con relación al área foliar de las plantas que recibieron menos LR (LBF, $81.34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Efectos semejantes se encontraron a los 17 y 38 DEXL, de tal forma que el área foliar de las plantas que recibieron mayor relación LR: RFA (40.09%) fue superior en 30.21 y 9% con respecto al área foliar presentada por la plantas que crecieron bajo menor relación de LR: RFA (26.55%). El aumento del área foliar y verdor foliar se deben a las diferentes relaciones de LA:LR por las lámpara de luz blanca fría y cálida, ya que autores como Ayala-Tafoya *et al.* (2015) señalan que altas proporciones de luz roja (600 a 700 nm), en un ambiente luminoso creado por mallas fotoselectivas promovió aumentos en área foliar de pimiento y tomate; dichos autores también mencionan que la luz azul (400 a 500 nm) promovió altos valores de verdor foliar en los cultivos antes mencionados. La forma de la hoja también resulta afectada por la calidad de la luz; la forma de las hojas de geranio ha mostrado estar influenciado por la luz azul suplementaria en plantas crecidas bajo luz roja (Fukuda *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Influencia de la calidad de luz en la morfología de plantas de pepino 'Poinsett 76'.

Variable	Tratamiento	7 DEXL	17 DEXL	38 DEXL
Altura (cm)	Luz blanca fría	4.42 b*	5.39 b	40.67 c
	Luz blanca neutra	4.49 ab	6.19 a	47.68 b
	Luz blanca cálida	5.36 a	6.33 a	55.50 a
Diámetro de tallo (mm)	Luz blanca fría	2.15 a	3.52 a	5.39 a
	Luz blanca neutra	1.81 b	3.27 a	5.12 ab
	Luz blanca cálida	1.98 a	3.45 a	4.55 b
Verdor (Unidades SPAD)	Luz blanca fría	41.02 a	41.19 a	54.32 a
	Luz blanca neutra	40.90 a	40.27 ab	52.40 ab
	Luz blanca cálida	39.23 a	38.74 b	50.13 b
Área foliar (cm ² /planta)	Luz blanca fría	17.35 b	123.17 b	1697.99 b
	Luz blanca neutra	20.38 b	139.76 ab	1892.87 a
	Luz blanca cálida	24.06 a	160.38 a	1855.56 a

DEXL=días de exposición a la luz. *Medias con la misma letra en cada columna y variable son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

En el Cuadro 3 se observa que la producción de biomasa también presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) debidas a la calidad de la luz. A 7 DEXL, LR tuvo un efecto positivo en el caso de las hojas, ya que con LBC (LR=118.03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; LR:RFA=40.9; LR:LA=2.67) , acumularon 29.3 y 20.6% más peso fresco y seco, respectivamente, comparados con el peso fresco y seco de hojas procedentes de plantas cultivadas con LBF (LR=81.34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; LR:RFA= 26.55%; LR:LA= 0.97); mientras que las hojas de plantas que crecieron bajo LBN (LR=100.44 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) presentaron 16.7 y 13.7% más peso fresco y seco, con respecto a las mismas variables de respuesta de las plantas que crecieron bajo el efecto de LBF (Nishimura *et al.*, 2009). No obstante, a 17 y 38 DEXL las diferencias ya no fueron significativas. Con respecto a la acumulación de biomasa de tallo, aunque a los 7 DEXL no se observaron diferencias (Cuadro 3), a los 17 y 38 DEXL el tallo también acumuló más peso fresco y seco cuando las plantas crecieron bajo el efecto de LBC, aunque estadísticamente igual que bajo el efecto de LBN (Casierra-Posada *et al.*, 2012; Ayala-Tafoya *et al.*, 2015).

LA influyó de manera similar en el peso fresco de raíz, ya que las plantas que crecieron en ambientes luminosos con más LA (LBN=64.87 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y LBF=84.19 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) desarrollaron 58.2 y 32.6% más biomasa radicular comparada con la de las plantas que crecieron bajo el efecto de menos LA (LBC, 44.24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Sin embargo, a 17 y 38 DEXL ya no se observaron diferencias; como tampoco fueron observadas en el peso seco de la raíz en cualquier muestreo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Influencia de la calidad de luz en la biomasa fresca y seca de plantas de pepino 'Poinsett 76'.

Variable	Tratamiento	7 DEXL	17 DEXL	38 DEXL
Peso fresco de hojas (g)	Luz blanca fría	0.286 b*	2.321 a	31.74 a
	Luz blanca neutra	0.334 ab	2.520 a	33.91 a
	Luz blanca cálida	0.370 a	2.682 a	33.27 a
	Luz blanca fría	0.695 a	0.880 b	9.28 b

Peso fresco de tallo (g)	Luz blanca neutra	0.720 a	0.858 b	11.01 a
	Luz blanca cálida	0.824 a	1.008 a	11.83 a
Peso fresco de raíz (g)	Luz blanca fría	0.512 a	0.467 a	6.44 a
	Luz blanca neutra	0.611 a	0.406 a	6.22 a
	Luz blanca cálida	0.386 b	0.487 a	6.02 a
Peso seco de hojas (g)	Luz blanca fría	0.029 b	0.227 a	3.74 a
	Luz blanca neutra	0.033 ab	0.209 a	3.55 a
	Luz blanca cálida	0.035 a	0.263 a	3.57 a
Peso seco de tallo (g)	Luz blanca fría	0.047 a	0.036 b	0.65 b
	Luz blanca neutra	0.048 a	0.034 b	0.74 ab
	Luz blanca cálida	0.046 a	0.043 a	0.79 a
Peso seco de raíz (g)	Luz blanca fría	0.031 a	0.046 a	0.29 a
	Luz blanca neutra	0.018 a	0.041 a	0.29 a
	Luz blanca cálida	0.013 a	0.043 a	0.30 a

DEXL=días de exposición a la luz. *Medias con la misma letra en cada columna y variable son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

Los resultados registrados sobre la severidad de cenicilla en las hojas de pepino, muestran que la luz emitida por lámparas fluorescentes con alta relación LR: RFA (40.09%) y LR: LA (2.67) permitieron que el hongo asperjado sobre las hojas pudiera establecerse y generar una mayor severidad de la enfermedad (Cuadros 1 y 4). Esos resultados se pueden entender al considerar que existe evidencia científica que describe cómo la calidad de la luz en términos de longitud de onda, juega un rol importante en la interacción planta-patógeno. Así, se ha probado la activación de los mecanismos de defensa en las plantas por efecto de la luz roja, efecto que puede restringir la severidad del daño en las plantas por los patógenos (Rahman *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2010); también, se ha probado que la luz azul logra afectar la germinación de conidios pero que esa calidad de luz es indispensable para mantener la virulencia del patógeno (Yu *et al.*, 2013).

Cuadro 4. Influencia de la calidad de luz en la severidad de la cenicilla en hojas de pepino 'Poinsett 76'.

Tratamientos	Hoja 1 (16 ddi)	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4	Hoja 5	Hoja 6	Hoja 7	Hoja 8
LBF	16.25 a*	22.08 ab	80.41 b	80.83 a	45.41 b	92.91 a	81.24 a	2.58 b
LBN	23.75 a	26.67 a	93.75 a	91.66 a	72.08 a	92.93 a	82.51 a	9.66 a
LBC	21.41 a	12.50 b	84.16 ab	81.25 a	67.08 a	87.52 a	84.12 a	2.25 b

LBF=luz blanca fría. LBN=luz blanca neutra. LBC=luz blanca cálida. ddi=días después de la inoculación. *Medias con la misma letra en cada columna y variable son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre el crecimiento radial de *Sclerotium rolfsii* (Cuadro 5). Así, después de 8 horas de exposición a la luz (HEXL), el crecimiento del hongo bajo la influencia de LBC, menos LA ($44.24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) superó en 6.55% al crecimiento radial del hongo que recibió LBF, mayor LA ($84.19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Efectos semejantes se encontraron a las 16 y 24 HEXL, de tal forma que el crecimiento radial del hongo que recibió LBC, con más LR ($118.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) aumentó en 7.47 y 19.34%, respectivamente, en comparación al crecimiento presentado por el hongo cuando recibió LBF, con menos LR ($81.34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Así mismo, el crecimiento radial del hongo que creció bajo la influencia de LBN, a los 16 y 24 HEXL fue superior en 14.01 y 13.86% con respecto al crecimiento radial bajo la influencia de LBF.

El crecimiento radial presentó su mayor expresión bajo la influencia de LBC, con mayor LR ya que a las 32 y 40 HEXL, superó con 19.07 y 18.32% al crecimiento del hongo que creció bajo la influencia de LB, con menor LR. De igual forma, a 48, 56 y 64 HEXL el crecimiento radial bajo la influencia de LBC, alta relación de LR:LA fue superior en 29.05, 32.33 y 28.22%, comparado con el crecimiento del hongo por efecto de LBF, menor relación de LR:LA.

Estos resultados se pueden entender al considerar que existe evidencia científica que describe cómo la calidad de la luz en términos de longitud de onda, juega un rol importante en la interacción planta-patógeno. La luz azul inhibe directamente la germinación de esporas y/o el crecimiento del tubo germinativo en muchos hongos patógenos de plantas (Mueller y Buck, 2003; Beyer *et al.*, 2004).

Cuadro 5. Influencia de la calidad de luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC) en el crecimiento radial de *Sclerotium rolfsii*.

Tratamiento/HEXL	Crecimiento radial (mm)							
	8	16	24	32	40	48	56	64
LBF	12.2 ^{b*}	21.4 ^b	27.4 ^b	32.5 ^b	44.2 ^b	49.9 ^c	53.5 ^c	61.9 ^c
LBN	13.3 ^a	24.4 ^a	31.2 ^a	36.3 ^a	50.0 ^a	56.4 ^b	61.0 ^b	72.0 ^b
LBC	13.0 ^{ab}	23.0 ^{ab}	32.7 ^a	38.7 ^a	52.3 ^a	64.4 ^a	70.8 ^a	79.4 ^a

HEXL=horas de exposición a la luz. * Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes también originó efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre la producción de esclerocios (Figura 3A), ya que el hongo cultivado bajo el efecto de LBF, con mayor LA produjo el menor número de esclerocios (985.4), seguido por LBN (1148) y la mayor formación de esclerocios se observó bajo la influencia de LBC (1257.7). Lo cual coincide con lo reportado por Reuveni y Raviv (1997), quienes encontraron que las películas que transmiten más luz azul, pueden suprimir esporulación en mildius y *Botrytis cinerea*.

En cuanto a la producción de biomasa de micelio, la calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($P \leq 0.05$), ya que el hongo cultivado bajo el efecto de LBF produjo 57.14% menos cantidad de biomasa (0.7 mg), que bajo el efecto de LBN y LBC (Figura 3B).

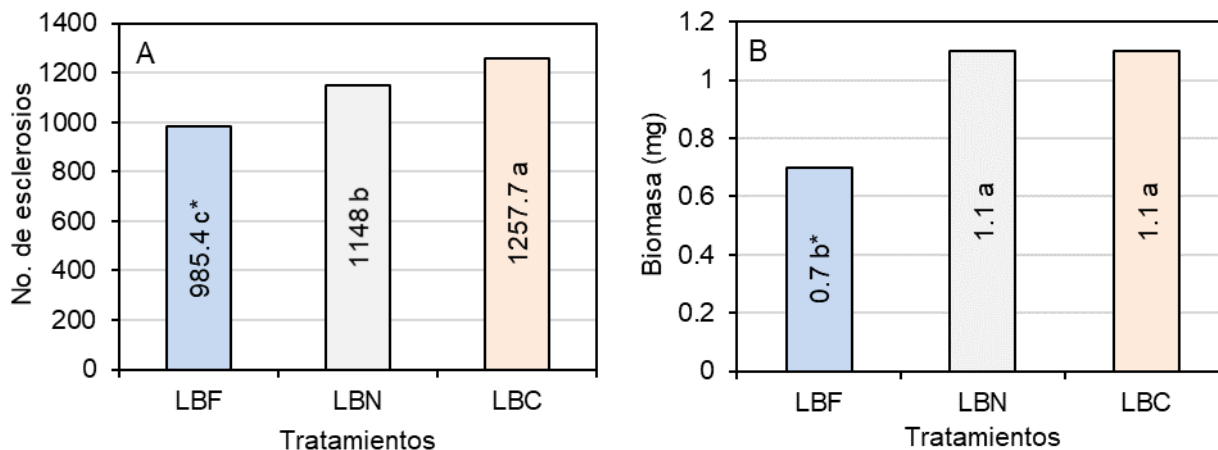


Figura 3. Influencia de la calidad de luz, emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC), en la formación de esclerocios (A) y biomasa de micelio (B) de *Sclerotium rolfii* cultivado *in vitro*. *Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

El espectro luminoso emitido por las lámparas fluorescentes influyó la morfología de las plantas de pepino, pues con la luz blanca fría se logró mayor verdor de hoja y diámetro de tallo, mientras que la luz blanca cálida incrementó la altura y el área foliar de las plantas.

La biomasa fresca y seca de hojas y tallo también fue modificada por la calidad de luz, las plantas que crecieron bajo el efecto de luz blanca cálida produjeron las mayores cantidades de biomasa fresca y seca, tanto de tallo como de hojas.

La luz blanca fría y la luz blanca cálida permitieron disminuir la severidad de cenicilla en plantas de pepino.

El espectro luminoso emitido por las lámparas fluorescentes influyó en el crecimiento de *Sclerotium rolfii*. La luz blanca fría disminuyó el crecimiento radial, producción de esclerocios y biomasa de micelio del fitopatógeno.

LITERATURA CITADA

- Avercheva O.V., Berkovich Y.A., Erokhin A.N., Zhigalova T.V., Pogosyan S.I., Smolyanina S.O. 2009. Growth and photosynthesis of Chinese cabbage plants grown under light-emitting diode-based light source. *Russian Journal of Plant Physiology* 56(1):14-21.
- Ayala-Tafoya F., Yáñez-Juárez M.G., Partida-Ruvalcaba L., Ruiz E.F.H., Campos G.H., Vásquez M.O., Velázquez-Alcaraz T.J., Díaz-Valdés T. 2015. Producción de pepino en ambientes diferenciados por mallas de sombreado fotoselectivo. *ITEA* 111(1):3-17.
- Beyer M., Roding S., Ludewig A., Verreet J.A. 2004. Germination and survival of *Fusarium graminearum* macroconidia as affected by environmental factors. *Journal of Phytopathology* 152:92-97.
- Blanco F.F., Folegatti M.V. 2003. A new method for estimating the leaf area index of cucumber and tomato plants. *Horticultura Brasileira* 21(4):666-669.

- Casierra-Posada F., Peña-Olmos J.E., Ulrichs C. 2012. Basic growth analysis in strawberry plants (*Fragaria* sp.) exposed to different radiation environments. *Agronomía Colombiana* 30(1):25-33.
- Fukuda N., Fujitan M., Sase S., Ezura H. 2008 Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. *HortScience* 115:176-182.
- Fukuda N., Ikeda H., Nara M. 1993. Effects of light quality on the growth of tomato and kidney bean cultured by hydroponics under controlled environment. *Journal of the Society of Agricultural Structures* 23(3):17-24.
- Fukuda N., Nogi M., Sase S., Nishimura S. 2002. Effects of localized light quality from light-emitting diodes on geranium peduncle elongation. *HortScience* 580:151-156.
- Heraut-Bron V., Robin C., Varlet-Grancher C., Guckert A. 2001. Phytochrome mediated effects on leaves of white clover: consequences of light interception by the plant under competition for light. *Annals of Botany* 88:737-743.
- Martín R.P., Navas G.L.M., Hernández N.S., Corrêa G.A., Martín G.J., Martín B.E., Chamorro P.P., Durán A.J.M. 2010. Diodos emisores de luz para la irradiación de plantas. Universidad de Valladolid.
- Meisel L.A., Urbina D.C., Pinto M.E. 2011. Fotorreceptores y respuestas de plantas a señales lumínicas. *Fisiología vegetal*. Ediciones Universidad de La Serena. La Serena, Chile. pp. 1-10.
- Mueller D.S., Buck J.W. 2003. Effects of light, temperature, and leaf wetness duration on daylily rust. *Plant Disease* 87:442-445.
- Nishimura T.K., Ohya E., Inagaki N. 2009. Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of perilla plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia Horticulturae* 122:134-137.
- Rahman M.Z., Honda Y., Arase S. (2003) Red-light-induced resistance in broad bean (*Vicia faba* L.) to leaf spot disease caused by *Alternaria tenuissima*. *Journal of Phytopathology* 151, 86-91.
- Reuveni R., Raviv M. 1992. The effect of spectrally-modified polyethylene films on the development of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown tomato plants. *Biology, Agriculture and Horticulture* 9:77-86.
- Reuveni R., Raviv M. 1997. Control of downy mildew in greenhouse-grown cucumbers using blue photoselective polyethylene sheets. *Plant Disease* 81:999-1004.
- Villar A.E. 2016. Diseño e implantación de un sistema de iluminación suplementario LED en un invernadero de investigación en la Grajera, Logroño (La Rioja). Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 224 p.
- Wang H., Jiang Y.P., Yu H.J., Xia X.J., Shi K., Zhou Y.H., Yu J.Q. 2010 Light quality affects incidence of powdery mildew, expression of defence-related genes and associated metabolism in cucumber plants. *European Journal of Plant Pathology* 127:125-135.
- Xiaoying L., Shirong G., Taotao C., Zhigang X., Tezuka T. 2012. Regulation of the growth and photosynthesis of cherry tomato seedlings by different light irradiations of light emitting diodes (LED). *African Journal of Biotechnology* 11:6169-6177.

Yorio N.C., Goins G.D., Kagie H.R., Wheeler M.R., Sager J.C. 2001. Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *Hortscience* 36(2):380-383.

Yu S.M., Ramkumar G., Lee Y.H. 2013. Light quality influences the virulence and physiological responses of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in pepper plants. *Journal of Applied Microbiology* 115:509-516.

MERCURIO TOTAL EN CAMARÓN SILVESTRE DE LA ZONA COSTERA DEL NOROESTE DE MÉXICO: EVALUACIÓN DEL RIESGO A LA SALUD HUMANA Alejandra Sánchez Betancourt¹, Martín Gabriel Frías Espericueta², Carolina Delgado Alvarez³, Jorge Ricardo Ruelas Inzunza⁴, Ofelia Escobar Sánchez², Carmen Cristina Osuna Martinez².

¹Programa de posgrado en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. alebetancourt8495@gmail.com

²Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

³Universidad Politécnica de Sinaloa.

⁴Instituto Tecnológico de Mazatlán.

RESUMEN

El mercurio es considerado una amenaza tanto para la vida silvestre como para la salud humana, pues logra bioacumularse y biomagnificarse a lo largo de la cadena alimenticia. Cuando este metal llega al ser humano, puede provocar alteraciones renales, inmunológicas, neurofisiológicas, entre otras. La principal ruta de ingreso de mercurio al humano es a través del consumo de productos de la pesca, como el camarón, que es uno de los principales mariscos consumidos a nivel local y nacional. Por tal motivo, se cuantificó la concentración de mercurio total en el tejido comestible de camarón silvestre en la zona costera de Sonora, Sinaloa y Nayarit. La extracción de mercurio se realizó por digestión ácida y su cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica por generación de vapor frío, utilizando el método propuesto por Loring y Rantala (1995). Para *P. vannamei*, la zona de Huizache registró una concentración máxima en músculo de 0.429 µg/g; para *P. stylirostris* fue de 0.229 µg/g en organismos provenientes de Cerro Cabezón; finalmente para *P. californiensis*, la mayor concentración en músculo fue de 0.829 µg/g en organismos de Topolobampo. Por último, se evaluó el riesgo a la salud humana, de acuerdo a la tasa de consumo de camarón en México y a la concentración de Hg total en la porción comestible de los organismos analizados, arrojando que las concentraciones no rebasan los límites establecidos en normas nacionales e internacionales y que el consumo de estos organismos no representa un riesgo a la salud humana.

PALABRAS CLAVE

Camarón, mercurio, zona costera, Noroeste de México, evaluación de riesgo.

ABSTRACT

Mercury is considered a threat to wildlife and human health, as it bioaccumulates and biomagnifies along the food chain. When it reaches the human being, it can cause renal, immunological, neurophysiological alterations, among others. The main route of entry of mercury to humans is through the consumption of fishery products, such as shrimp, which is one of the main seafood consumed locally and nationally. For this reason, the concentration of total mercury in the edible tissue of wild shrimp of the coastal zone of Sonora, Sinaloa and Nayarit was quantified. The extraction of mercury was carried out by acid digestion and its quantification by atomic absorption spectrophotometry by generation of cold vapor, using the method proposed by Loring and Rantala (1995). The *P. vannamei* organisms that displayed a higher concentration of mercury in muscle tissue were those of the Huizache area recording

0.429 µg/g; of *P. stylirostris* was 0.229 µg/g in the organisms from Cerro Cabezón; finally, for *P. californiensis*, the highest concentration was 0.829 µg/g found in Topolobampo organisms. Also, we assessed the risk to human health, according to the rate of shrimp consumption in Mexico and the concentration of total Hg in the edible portion of the organisms analyzed, demonstrates that the concentrations of mercury found do not exceed the limits established in national and international standards and the consumption of these organisms do not pose a risk to human health.

KEYWORDS

Shrimp, mercury, coastal zone, Northwest of Mexico, risk assessment.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas ambientales al que se le presta gran atención, es la contaminación de los ecosistemas costeros, dado que estos cuerpos de agua, que incluyen lagunas, esteros y aguas oceánicas son receptores de diversas sustancias que en concentración elevada pueden representar riesgo tanto para los organismos que ahí habitan como para las personas que consumen estas especies acuáticas (Mancera-Rodríguez y Álvarez-León, 2006). En la lista de los metales tóxicos prioritarios, se encuentra el mercurio (Hg), elemento no esencial, que a presión y temperatura ambiente se encuentra como un líquido plateado que se volatiliza muy fácilmente y es emitido al medio por procesos naturales o a través de diversas actividades humanas. El ciclo del Hg es muy complejo e implica diversos compartimientos ambientales que incluyen aire, tierra y agua, después pasa a las plantas y a los animales y, por último, al hombre (ANM, 2006). Este ciclo incluye la emisión inicial, circulación atmosférica en forma de vapor, y el eventual retorno del mercurio por precipitación a la tierra y al agua donde es acumulado en los sedimentos (Gustin, 2000).

Se ha establecido que las personas o poblaciones expuestas a bajos niveles de Hg pueden desarrollar alteraciones en las funciones del sistema nervioso (Lebel *et al.*, 1996), el cuál es especialmente sensible al metilmercurio, con consecuencias neuro-fisiológicas particularmente en el desarrollo de los fetos y en los niños pequeños. Además, este metal es potencialmente mutagénico y teratogénico y puede afectar de forma negativa el sistema inmune y reproductor de los consumidores frecuentes de pescados. Asimismo, tiene efectos neurotóxicos, genotóxicos e inhibe la síntesis de proteínas esenciales en los organismos (Abdelouahab *et al.*, 2008).

El camarón, es una especie con una amplia distribución geográfica y altamente comercializado. Este organismo, por su volumen se encuentra posicionado en el segundo lugar de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor económico, lo encontramos en el primer lugar. Las principales especies comerciales en la costa del Pacífico son el camarón azul (*Penaeus stylirostris*), el camarón blanco (*Penaeus vannamei*), el camarón café (*Penaeus californiensis*) y el cristal (*Penaeus brevirostris*) (Gillett, 2010). En 2013 el consumo directo de todos los tipos de pescado en México (incluidos los mariscos) fue de 1,112,374 toneladas, equivalente a 9.4 kg *per cápita*, resultando un consumo de camarón de 130,189 kg, o 1.1 kg *per cápita* (SAGARPA, 2013).

Dado que el camarón es una especie muy consumida, la evaluación de riesgo es una herramienta importante para la protección de la salud de aquellas personas cuyo consumo es frecuente. Dicha evaluación consta de una metodología que está estructurada en cuatro etapas: la determinación del peligro, la evaluación de la exposición, evaluación de dosis-respuesta y la caracterización del riesgo. Por otra parte, el análisis de riesgo a la salud permite la cuantificación y caracterización de las amenazas para la salud humana y para el medio ambiente y tiene como finalidad estimar los distintos factores de riesgo por grupos de edad, sexo, profesión y regiones geográficas, para establecer conexiones fuente-ruta-receptor, detectar zonas donde ocurren rutas completas de exposición a contaminantes y detectar y confirmar las zonas de mayor riesgo (OMS, 2002; SEMARNAT, 2007).

La toxicidad de los metales, ha impulsado a la comunidad científica y a organismos de salud pública a realizar diversos estudios a nivel mundial, mismos que permiten determinar la concentración de dichos metales en diferentes especies de crustáceos, principalmente en camarón, por ser una especie muy consumida y por su alto valor comercial. Entre estos estudios encontramos el realizado por Riisgard y Famme (1986), quienes determinaron que en el camarón *Crangon crangon* la tasa de acumulación de mercurio orgánico sobrepasó aproximadamente 30 veces la del inorgánico. Además, Zhang y *et al.* (2011), evaluaron la concentración de mercurio inorgánico y mercurio total en rayas, peces y camarones recolectados de un supermercado de China. Dicho autores reportaron que la concentración media que se obtuvo para camarones fue de 27 ng/g en el caso de mercurio total y de 14.5 ng/g para mercurio inorgánico. Además en México, en un estudio desarrollado por Ruelas-Inzunza *et al.* (2004), donde evaluaron la concentración de mercurio en el músculo de cinco especies de organismos Peneidos en la laguna Altata-Ensenada del Pabellón, se reporta que la especie con mayor concentración de mercurio en músculo fue *Penaeus stylirostris* con 0.3 µg/g.

Por otra parte, a nivel global, se han realizado estudios para determinar el riesgo a la salud humana por el consumo de especies acuáticas contaminadas por mercurio, donde destaca el desarrollado por Castilhos *et al.* (2006), donde evaluaron el riesgo a la salud humana por consumo de diferentes especies de peces en Indonesia en áreas donde realizan minería de oro. Los resultados de este estudio mostraron que el consumo de estas especies, no representa un riesgo para la salud humana. Asimismo, según un estudio realizado por Kaya y Turkoglu en el 2017, la concentración más alta de Hg en músculo de camarón *Penaeus semisulcatus* en la bahía Iskenderun en Turquía fue de 0.228 µg/g. También se evaluó el riesgo a la salud humana donde obtuvo un HQ de 0.65, indicando que no existe un riesgo por el consumo de dicha especie.

En México, existen estudios como el realizado por Ruelas-Inzunza *et al.* (2011), quienes evaluaron el cociente de riesgo asociado a los niveles de Hg y las tasas de consumo de pescado y camarón de la zona costera del Golfo de California, reportando un valor de HQ alto (HQ > 1) para tiburones *Sphyrna lewini*, mientras que para camarón se obtuvo un resultado por debajo del considerado como riesgoso. Otro estudio similar, fue el desarrollado por Delgado-Alvarez *et al.* (2015), quienes determinaron la concentración de mercurio en el músculo y el hepatopáncreas de camarón de granjas de Sonora, Sinaloa y Nayarit, resultando que su consumo no representa riesgo a la salud humana (HQ < 1), esto

considerando las tasas de ingesta y las concentraciones obtenidas. Para el año 2016, Frías-Espericueta *et al.*, establecieron que los niveles de mercurio para *P. stylirostris* y *P. californiensis* están por debajo de los límites máximos permisibles (LMP) para consumo humano. Asimismo, se determinó que la relación selenio-mercurio fue superior a 1, lo que indica un bajo riesgo a la salud humana por consumo de estas especies de camarón. Otras especies acuáticas también han sido estudiadas, tal es el caso de la investigación realizada por Delgado-Alvarez *et al.* (2017), quienes se plantearon determinar la concentración de mercurio en *Mugil cephalus* y *Mugil curema*, y observaron que el nivel de este elemento en estos organismos era inferior a los límites oficiales permitidos, sin embargo mostró un HQ > 1 para los individuos de edades tempranas y para personas que frecuentan el consumo de estas especies.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El mercurio es considerado una amenaza tanto para la vida silvestre como para la salud humana, pues se presenta en diferentes formas químicas. Son las especies orgánicas del mercurio las consideradas de mayor preocupación ambiental y de salud pública, pues estas logran bioacumularse y biomagnificarse a través de las redes tróficas hasta llegar al ser humano. En recientes estudios se ha determinado que la principal ruta de ingreso de mercurio al ser humano, es a través del consumo de productos de la pesca. El camarón, al ser uno de los principales mariscos consumidos a nivel local y nacional, y según algunos autores con gran potencial para acumular mercurio, puede representar una vía de entrada de mercurio a la población. Existen diversos estudios, en los cuales se evalúa la concentración de Hg en tejidos de diferentes especies acuáticas. En la mayoría de los casos, las concentraciones no rebasan los límites máximos permisibles, sin embargo, al realizar una evaluación del riesgo a la salud humana tomando en cuenta la frecuencia de consumo y características de diversos estratos poblacionales, los resultados han señalado un posible riesgo para la salud humana. Por otro lado, el convenio de Minamata firmado por México en el año 2015, tiene como uno de sus objetivos evaluar la exposición de las poblaciones a este contaminante y realizar mejoras en la gestión del mercurio en todo su ciclo de vida. Por tal motivo, es necesario continuar con el monitoreo de las concentraciones de mercurio en camarones con el fin de evaluar el riesgo a la salud humana en regiones costeras del Pacífico mexicano.

HIPÓTESIS

El contenido de Hg en camarones capturados en la costa de Sonora será significativamente mayor que en la costa de Sinaloa y Nayarit, pero no representará un riesgo a la salud humana por su consumo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el riesgo a la salud humana (HQ), con base en la concentración de mercurio total en tres especies de camarón de la zona costera del Noroeste de México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la concentración de mercurio total en el músculo de camarón blanco, camarón café y camarón azul del Noroeste de México.
2. Establecer si el contenido de mercurio total es diferente estadísticamente entre especies y áreas de captura del Noroeste de México.
3. Definir si la concentración de mercurio en las especies analizadas rebasa los límites máximos permisibles para consumo humano de acuerdo a las normas nacionales e internacionales.
4. Evaluar el riesgo a la salud humana de acuerdo a los niveles de mercurio y la tasa de consumo aparente *per cápita*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio está localizada en la región Noroeste de México y comprende la franja costera de los estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit. Las muestras de camarón fueron obtenidas entre septiembre y octubre de 2017, verificando en todos los casos que los organismos tuvieran una longitud total (LT) similar. Las muestras se obtuvieron de siete puntos de muestreo de Sonora, seis puntos de muestreo de Sinaloa y dos puntos de muestreo en Nayarit. En cada sitio se colectó una muestra de 15 organismos.

Para el muestreo, almacenamiento y análisis de los diferentes tejidos, se utilizaron recipientes de plástico lavados previamente de acuerdo al procedimiento descrito por Moody y Lindstrom (1977), el cual consiste en realizar un lavado con jabón y agua corriente, posteriormente enjuagar con agua destilada e introducirlos en un baño con ácido clorhídrico (2M) y ácido nítrico (2M) durante tres días en cada ácido. Una vez terminado el lavado con los ácidos, el material se enjuagó con agua Milli-Q, se dejó secar y se guardó en bolsas de polietileno hasta su utilización. La identificación taxonómica de los organismos que se recolectaron, se llevó a cabo utilizando claves de identificación especializadas para crustáceos (Hendrickx, 1993). Antes de realizar su disección, los organismos se midieron con un ictiómetro. Después de la disección, se separó el abdomen (músculo comestible) el cual fue analizado para los fines de este estudio.

Los tejidos se liofilizaron (72 h a 80×10^{-3} mbar a -45 °C) con el fin de extraer la humedad en su totalidad, posteriormente las muestras fueron molidas en un mortero de teflón y almacenadas en recipientes de polietileno hasta su análisis. Se separaron tres submuestras de peso conocido (aproximadamente 0.25 g) de la muestra molida y se colocaron en recipientes de teflón SAVILLEX de 60 mL, se le añadió 5 ml de ácido nítrico concentrado (HNO₃). La digestión se realizó en el mismo recipiente sobre una plancha de cerámica (Barnstead Thermoline) a 120 °C durante 4 horas. Posteriormente, las muestras se aforaron a 25 g con agua Milli-Q.

Para la cuantificación de Hg total se utilizó el método propuesto por Loring y Rantala (1995), que se conoce como espectrofotometría de absorción atómica por generación de vapor frío. El procedimiento consiste en oxidar la muestra por digestión con ácido nítrico concentrado y reducir el mercurio a su estado elemental (Hg⁰) con la ayuda de cloruro estañoso (SnCl₂), es entonces cuando el vapor de mercurio es conducido a través de la celda de absorción donde se mide la concentración. La medición se realizó con un analizador de mercurio con

generador de vapor frío (Buck Scientific 410). Los resultados de la concentración de Hg se expresaron en $\mu\text{g Hg/g}$ en base seca.

Para determinar la exactitud y precisión del método el procesamiento y análisis de las muestras se realizó con agua ultrapura Milli-Q y reactivos grado Trace Metal (Baker). También, para asegurar la calidad de las determinaciones y comprobar el procedimiento analítico, las muestras se analizaron por triplicado. Se utilizaron blancos de reactivos y además se analizó material de referencia de hepatopáncreas de langosta TORT-2 certificado por el Consejo Nacional de Investigación de Canadá (NRCC). Los valores obtenidos con el material de referencia se compararon con los valores establecidos en el certificado.

El riesgo a la salud humana se determinó de acuerdo a la tasa de consumo y a la concentración de Hg en la porción comestible de los organismos analizados, mediante la ecuación de cociente de riesgo (HQ) de acuerdo a Newman y Unger (2002), que es un indicador que relaciona el nivel de exposición a una sustancia única con una dosis de referencia.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

La tabla 1 muestra las concentraciones medias y la desviación estándar (peso seco de mercurio total) encontrada en el músculo de las tres especies analizadas para cada uno de los sitios de muestreo.

Tabla 1. Concentración media y desviación estándar de Hg ($\mu\text{g/g}$) en músculo de *P. vannamei*, *P. stylirostris* y *P. californiensis* proveniente del noroeste de México.

Sitio	<i>P. vannamei</i>	<i>P. stylirostris</i>	<i>P. californiensis</i>
Puerto Peñasco			0.134±0.178 a
San Jorge		0.124±0.085 a	
Guaymas		0.181±0.196 a	0.375±0.369 a
Bahía de Lobos		0.079±0.024 a	0.123±0.043 a
Tobarí		0.131±0.100 a	
Agiabampo	0.026±0.072 a	0.224±0.031 a	0.264±0.186 a
Yavaros		0.151±0.085 a	
Topolobampo	0.051±0.030 a	0.127±0.126 a	0.829±0.417 a
Cerro Cabezón	0.117±0.050 a	0.229±0.176 a	
Altata	0.154±0.106 a		
Mazatlán	0.047±0.015 a		
Huizache	0.429±0.097 b		

Teacapán	0.060±0.027 a
Agua Brava	0.109±0.088 a
San Blas	0.362±0.108 b

ANOVA de una vía. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estaciones por cada especie.

En los datos obtenidos de las concentraciones de mercurio total en cada punto de muestreo, para *P. vannamei*, la zona de Huizache-Caimanero registró una concentración máxima en músculo de 0.429 $\mu\text{g/g}$ y una concentración mínima en la zona de Agiabampo de 0.026 $\mu\text{g/g}$; para *P. stylirostris* la concentración máxima en músculo (0.229 $\mu\text{g/g}$) se encontró en organismos provenientes de Cerro Cabezón y la concentración mínima (0.079 $\mu\text{g/g}$) en la zona de Bahía de Lobos; para *P. californiensis*, se obtuvo un rango en los valores de concentración de 0.123 $\mu\text{g/g}$ en organismos de Bahía de Lobos y 0.829 $\mu\text{g/g}$ en organismos de Topolobampo.

En las muestras analizadas de *P. vannamei*, las concentraciones obtenidas en Huizache y San Blas fueron significativamente mayores a las concentraciones de los demás puntos de muestreo. Por otro lado, para las especies de *P. stylirostris* y *P. californiensis*, no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de cada uno de sus puntos de muestreo.

Se realizó una comparación de la concentración de mercurio total entre organismos de Sonora, Sinaloa y Nayarit (Tabla 2). Para camarón blanco, se obtuvieron concentraciones significativamente mayores en el estado de Nayarit, respecto a Sonora, pero no respecto a Sinaloa. En el caso de camarón azul y café, se realizó una prueba t-student, donde no se encontró diferencia significativa entre los estados de Sonora y Sinaloa en ambas especies de camarón.

Tabla 2. Concentración media y desviación estándar ($\mu\text{g/g}$ pesco seco) de Hg total en el músculo de tres especies de camarón de diferentes estados del Noroeste de México.

Especie	Sonora	Sinaloa	Nayarit
<i>P. vannamei</i>	0.0261±0.007a	0.143±0.148ab	0.235±0.164b
<i>P. stylirostris</i>	0.148±0.098a	0.178±0.148 ^a	
<i>P. californiensis</i>	0.224±0.221a	0.829±0.417 ^a	

P. vannamei: Letras diferentes indican diferencias significativas entre los datos de la misma fila (U Mann-Whitney, $p < 0.05$). *P. stylirostris* y *P. californiensis*: Letras diferentes indican diferencias significativas entre los datos de la misma fila (Prueba t-student, $p < 0.05$).

A pesar de que se esperaba obtener mayores concentraciones de mercurio en los organismos provenientes del estado de Sonora, por tener el segundo lugar en minería en el país, después de Durango y que las concentraciones del estado de Sinaloa fueran menores, esto no resultó ser así. Según Gustin, 2000, el mercurio es un elemento altamente volátil, el

cual puede transportarse fácilmente a través de la atmósfera y depositarse en otros lugares, incluso muy lejanos de su fuente de emisión. Del mismo modo, un estudio realizado por Delgado Alvarez *et al*, en el 2015, concluyó también que las concentraciones de mercurio de camarón blanco provenientes de granjas de Sonora, tenían menores concentraciones que las granjas del estado de Nayarit, concordando con lo reportado en este estudio.

Al realizar una comparación entre las concentraciones encontradas para cada una de las especies estudiadas, se estableció que no existe diferencia significativa entre *P. vannamei*, *P. stilirostris* y *P. californiensis* (Tabla 3). Esto a pesar de que las concentraciones registradas para *P. californiensis* son casi el doble respecto a las concentraciones encontradas en las otras dos especies, posiblemente debido a que las desviaciones estándar para las tres concentraciones son muy altas y no permite que se observen las diferencias de las concentraciones encontradas. Dichas desviaciones estándar, surgen por la amplitud de la zona de muestreo que se realizó para obtener los valores, que abarca los estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit.

Al realizar una comparación entre las concentraciones encontradas para cada una de las especies estudiadas, se estableció que no existe diferencia significativa entre *P. vannamei*, *P. stilirostris* y *P. californiensis* (Tabla 3). Esto a pesar de que las concentraciones registradas para *P. californiensis* son casi el doble respecto a las concentraciones encontradas en las otras dos especies, posiblemente debido a que las desviaciones estándar para las tres concentraciones son muy altas y no permite que se observen las diferencias de las concentraciones encontradas. Dichas desviaciones estándar, surgen por la amplitud de la zona de muestreo que se realizó para obtener los valores, que abarca los estados de Sonora, Sinaloa y Nayarit.

Tabla 3. Concentración media y desviación estándar ($\mu\text{g/g}$ peso seco) de Hg total en el músculo de *P. vannamei*, *P. stylirostris* y *P. californiensis* en el Noroeste de México.

Especie	[Hg]
<i>P. vannamei</i>	0.187 \pm 0.166a
<i>P. stylirostris</i>	0.156 \pm 0.11a
<i>P. californiensis</i>	0.345 \pm 0.355a

Prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, $p < 0.05$

Los datos arrojados en el presente estudio, son similares a los reportados por Frías-Espéricueta *et al.* (2016) de 0.31 $\mu\text{g/g}$ y de 0.13 $\mu\text{g/g}$ reportado por Ruelas-Inzunza *et al.* (2004) para la especie de *P. californiensis*. Para el caso de *P. vannamei*, las concentraciones están también dentro del rango reportado por autores como Ruelas-Inzunza *et al.*, 2004 (0.2 $\mu\text{g/g}$) y Delgado-Alvarez *et al.*, 2015 (0.53 $\mu\text{g/g}$). Finalmente, en el caso de *P. stylirostris*, Frías-Espéricueta *et al.*, 2016 reportan una concentración de 0.46 $\mu\text{g/g}$ y Ruelas-Inzunza *et al.*, 2004 una concentración de 0.3 $\mu\text{g/g}$, siendo estas dos anteriores mayores a la concentración reportada en el presente estudio de 0.156 $\mu\text{g/g}$.

Además, se realizó una correlación entre la talla promedio de las muestras para cada especie de camarón y la concentración de mercurio total. En el caso de *Penaeus stylirostris* esta no fue significativa ($r=0.405$ y $p=0.29$). Para *Penaeus vannamei*, el coeficiente de correlación obtenido fue de 0.333 y un valor de p de 0.356, mostrando que no hay una correlación significativa. Finalmente, la correlación tampoco fue significativa para las muestras de *Penaeus californiensis*, donde se obtuvo un valor de $R=0.7$ y un valor de $p=0.233$.

Las tallas de los camarones de las tres especies oscilaron entre 12 y 16 cm, estas tallas por tener un intervalo tan pequeño, no permiten que se observe una correlación entre el tamaño de los organismos y la concentración de mercurio. Por otro lado, a pensar que la correlación negativa para la especie de *P. stylirostris* no fue significativa, es comparable con los resultados obtenidos por Canli y Furless en 1993, donde para la especie de crustáceo de *Nephrops norvegicus*, se observaba que, a mayor tamaño de los organismos, tenían una menor concentración de mercurio. Otro estudio que reveló la misma tendencia, pero en este caso para la misma especie de este estudio es el realizado por Frías-Espéricueta *et al.*, 2015.

En la comparación de las concentraciones obtenidas con los límites máximos permisibles dados para México, según la NOM-027 (1.0 $\mu\text{g/g}$ peso húmedo); el límite que brinda la FDA, 2006 (0.5 $\mu\text{g/g}$ peso húmedo) y el límite de Bélgica considerado como el más estricto (0.3 $\mu\text{g/g}$ peso húmedo), de manera general, las concentraciones de Hg de los organismos analizados no rebasan los límites máximos permisibles de las normas nacionales e internacionales. El valor más alto, fue registrado en Topolobampo para *P. californiensis* con 0.829 $\mu\text{g/g}$ en peso seco. Al considerar la humedad del 80%, este valor se reduce a 0.207 $\mu\text{g/g}$ (peso húmedo).

Para la evaluación del riesgo a la salud humana, se realizó el cálculo del cociente de riesgo para diferentes pesos corporales (20kg – 100kg) utilizando la concentración en peso húmedo promedio de Hg en el músculo de *P. vannamei*, *P. stylirostris* y *P. californiensis* para cada uno de los puntos de muestreo, la dosis de referencia recomendada por la EPA (2000) 0.5 $\mu\text{g/kg/día}$ y la tasa de consumo aparente de camarones (1.1 kg/persona/año o 3.01 g/persona/día: SAGARPA,2013).

Todos los valores de HQ calculados para los 15 puntos de muestreo están por debajo del valor crítico ($HQ \geq 1$). Se obtuvieron coeficientes mínimos desde 0.001 para lugares como Teacapán y Mazatlán para personas con un peso corporal de entre 60 y 100 kg y el valor máximo se obtuvo en Huizache, para personas con un peso corporal de 20 kg. Estos resultados muestran que, a nivel nacional no existe un riesgo por consumo de camarón, debido a que el consumo aparente anual es muy bajo.

Por otra parte, para obtener el consumo estimado de camarón, se realizó un promedio de los resultados obtenidos por Delgado-Alvarez (2017), donde por medio de encuestas, se estimó un consumo de camarón blanco de 1.39 kg/año en Altata, 27.82 kg/año en playa Ceuta y de 7.48 kg/año en Teacapán. Estas encuestas arrojaron también, una tasa de consumo de camarón blanco estimada *per cápita* al año de 12.23 kilogramos. Este dato, junto con la concentración en peso húmedo promedio de Hg en el músculo de *P. vannamei*, *P. stylirostris*

y *P. californiensis* para cada uno de los puntos de muestreo y la dosis de referencia recomendada por la EPA (2000) fueron sustituidos en la fórmula para calcular el cociente de riesgo, todo esto para diferentes pesos corporales (20kg – 100kg) (Tabla 5).

Tabla 5. Coeficiente de riesgo (HQ) por el consumo estimado de músculo de camarón en diferentes puntos de muestreo de la zona costera de Sonora, Sinaloa y Nayarit, para diferentes pesos corporales.

Sitio	Peso de la persona (Kg)								
	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Puerto Peñasco	0.112	0.075	0.056	0.045	0.037	0.032	0.028	0.025	0.022
San Jorge	0.104	0.069	0.052	0.042	0.035	0.030	0.026	0.023	0.021
Guaymas	0.233	0.155	0.116	0.093	0.078	0.067	0.058	0.052	0.047
Bahía de Lobos	0.085	0.056	0.042	0.034	0.028	0.024	0.021	0.019	0.017
Tobarí	0.110	0.073	0.055	0.044	0.037	0.031	0.027	0.024	0.022
Agiabampo	0.144	0.096	0.072	0.057	0.048	0.041	0.036	0.032	0.029
Yávaros	0.126	0.084	0.063	0.051	0.042	0.036	0.032	0.028	0.025
Topolobampo	0.281	0.187	0.141	0.112	0.094	0.080	0.070	0.062	0.056
Cerro Cabezón	0.145	0.097	0.072	0.058	0.048	0.041	0.036	0.032	0.029
Altata	0.129	0.086	0.065	0.052	0.043	0.037	0.032	0.029	0.026
Mazatlán	0.039	0.026	0.020	0.016	0.013	0.011	0.010	0.009	0.008
Huizache	0.359	0.240	0.180	0.144	0.120	0.103	0.090	0.080	0.072
Teacapán	0.051	0.034	0.025	0.020	0.017	0.014	0.013	0.011	0.010
Agua Brava	0.091	0.061	0.046	0.037	0.030	0.026	0.023	0.020	0.018
San Blas	0.303	0.202	0.152	0.121	0.101	0.087	0.076	0.067	0.061

A pesar de que todos los coeficientes de riesgo calculados con el consumo estimado, fueron más altos que los calculados con el consumo aparente, ninguno es igual o mayor a 1, lo cual significa, que no existe un riesgo para la salud humana por consumo de estos organismos. Resultados similares muestran un estudio realizado por Delgado-Alvarez *et al.*, en 2015, donde se evaluó el riesgo a la salud humana por consumo de camarón de granja contaminado con mercurio, señalando que, al igual que en el presente estudio, no es un riesgo para la salud humana.

CONCLUSIONES

De manera general, las concentraciones medias de Hg, tienden a ser más altas en los organismos capturados en Nayarit y los más bajos en Sonora. En cuanto a las concentraciones de mercurio por especie, no existe diferencia significativa entre las concentraciones medias registradas para las tres especies de camarón.

Las concentraciones de mercurio en las especies analizadas, no rebasan los LMP para consumo humano de acuerdo con normas nacionales e internacionales y el consumo de camarón proveniente del noroeste de México, no representa un riesgo para la salud humana.

LITERATURA CITADA

- Abdelouahab N., Vanier C., Baldwin M., Garceau S., Lucotte M. y Mergler D. 2008. Ecosystem matters; Fish consumption, mercury and exposure among fluvial lake fish-eaters. *Science of the Total Environment*, 407: 154-164.
- Academia Nacional de Medicina. 2006. Seminario Internacional sobre Clínica del Mercurio Memorias. ANM1st ed. Bogotá, D.C, Colombia: Kimpres Ltda.
- Canli M. y Furness R.W. 1993. Toxicity of heavy metals dissolved in sea water and influences of sex and size on metal accumulation and tissue distribution in the norway lobster *Nephrops norvegicus*. *Mar. Environ. Res.* 36: 217-236.
- Castilhos Z. C., Rodrigues-Filho S., Rodrigues A. P. C., Villas-Bôas R. C., Siegel S., Veiga M. M., y Beinhoff C. 2006. Mercury contamination in fish from gold mining areas in Indonesia and human health risk assessment. *Science of The Total Environment*, 368: 320-325.
- Delgado-Alvarez C. G., Frías-Espericueta M. G., Ruelas-Inzunza J., Becerra-Álvarez M. J., Osuna-Martínez C. C., Aguilar-Juárez M. y Voltolina D. 2017. Total mercury in muscles and liver of *Mugil* spp. from three coastal lagoons of NW Mexico: concentrations and risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189: 312.
- Delgado-Alvarez C. G., Ruelas-Inzunza J., Osuna-López J. I., Voltolina D. y Frías-Espericueta M. G. 2015. Mercury content and their risk assessment in farmed shrimp *Litopenaeus vannamei* from NW Mexico. *Chemosphere*, 119: 1015-1020.
- Frías-Espericueta M. G., Ramos-Magaña B. Y., Ruelas-Inzunza J., Soto-Jiménez M. F., Escobar-Sánchez O., Aguilar-Juárez M., y Voltolina D. 2016. Mercury and selenium concentrations in marine shrimps of NW Mexico: health risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188:629
- Gillett R. R. 2010. Estudio mundial sobre las pesquerías del camarón. Documento Técnico de Pesca. Roma, FAO (Disponible en www.fao.org).
- Gustin M. S., Lindberg S. E., Austin K., Coolbaugh M., Vette A. y Zhang H. 2000. Assessing the contribution of natural sources to regional atmospheric mercury budgets. *The Science of the Total Environment*, 259: 61-71.

- Hendrickx M. E. 1993. Crustáceos Decápodos del Pacífico Mexicano. Biodiversidad marina y costera de México. Salazar-Vallejo S. I. y González N. E. (Eds.) Com. Nal. Biodiversidad y CIQRO, México. 271-318 pp.
- Kaya G., y Turkoglu S. 2017. Bioaccumulation of Heavy Metals in Various Tissues of Some Fish Species and Green Tiger Shrimp (*Penaeus semisulcatus*) from İskenderun Bay, Turkey, and Risk Assessment for Human Health. Biological Trace Element Research, 180: 314-326.
- Lebel J., Mergler D. y Lucotte M. 1996. Evidence of early nervous systems dysfunction in Amazonian populations exposed to low-levels of methylmercury. Neurotoxicology, 17: 157-168.
- Loring D. H. y Rantala R. T. 1992. Manual for the geochemical analyses of marine sediments and suspended particulate matter. Earth Science Reviews 32: 235-283.
- Mancera-Rodríguez N. J. y Álvarez-León R. 2006. Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. Acta Biológica Colombiana, 11: 3-23.
- Moody J. R. y Lindstrom R. M. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. Analytical Chemistry, 49: 2264-2267.
- Newman M. C. y Unger M. A. 2002. Fundamentals of Ecotoxicology. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. 480 pp.
- OMS. 2002. Informe sobre la salud en el mundo. Organización Mundial de la Salud, Geneva. (Disponible en www.who.int).
- Riisgard H. U. y Famme P. 1986. Accumulation of inorganic and organic mercury in shrimp, *Crangon crangon*. Marine Pollution Bulletin, 17: 255-257.
- Ruelas-Inzunza J., García-Rosales S. B., y Páez-Osuna F. 2004. Distribution of mercury in adult penaeid shrimps from Altata-Ensenada del Pabellón lagoon (SE Gulf of California). Chemosphere, 57: 1657-1661.
- Ruelas-Inzunza J., Páez-Osuna F., Ruiz-Fernández A. C. y Zamora-Arellano N. 2011. Health risk associated to dietary intake of mercury in selected coastal areas of México. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 86: 180-188.
- SAGARPA. 2013. Anuario Estadístico de Pesca 2013. México, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. 336 pp.
- SEMARNAT. 2007. Norma Oficial Mexicana NOM-147. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Diario Oficial de la Federación, 2 de Marzo, 2007.

Zhang W., Xue J., Yang X. y Wang S. 2011. Determination of inorganic and total mercury in seafood samples by a new ultrasound-assisted extraction system and cold vapor atomic fluorescence spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 26: 2023

ROTACIÓN DE CULTIVOS Y PRÁCTICAS DE LABRANZA SOBRE CARACTERÍSTICAS DEL SUELO Y RENDIMIENTO DE TRIGO EN EL TRÓPICO SECO Alberto Borbón

Gracia¹, Gabriel Antonio Lugo García¹, Álvaro Reyes Olivas¹, Víctor Valenzuela Herrera²
Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias-Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. Calle 16 Av. Japaraqui, Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México. CP. 81110. Tel. (687) 8960908. (borbongracia@hotmail.com; gabriel-lugo9010@hotmail.com; alreo.uas@gmail.com) ²Campo Experimental Valle de Culiacán-INIFAP. Carretera Culiacán el Dorado km 17.5. Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80000 (Valenzuela.victor@inifap.gob.mx).
Autor para correspondencia: gabriel-lugo9010@hotmail.com

RESUMEN

Con la finalidad de determinar el impacto que tiene la siembra directa y la rotación de cultivos sobre la materia orgánica del suelo y el rendimiento de cultivo de trigo (*Triticum durum* Desf) en el trópico seco, se realizó un estudio en el sur de Sonora por dos años consecutivos en un suelo arcilloso, donde se evaluaron dos sistemas de labranza y rotación de cultivos, los sistemas de labranza utilizados fueron labranza tradicional (LT) y siembra directa (SD), y la rotación de cultivos utilizada en SD fue: trigo-trigo, maíz-trigo y cártamo-trigo, en LT no se realizó rotación de cultivos utilizándose trigo como monocultivo. La siembra se realizó en los ciclos otoño-invierno 2015-2016 y 2016-2017, utilizando la variedad de trigo cristalino CIRNO C2008. En LT se realizaron las labores de barbechó, dos pasos de rastra, nivelación y surcado. En SD se sembró sin mover el suelo utilizando una sembradora triguera convencional a la cual se le adaptaron discos cortadores corrugados en la parte frontal. La materia orgánica del suelo (MOS) se muestreo en las profundidades 0-5 y 5-10 centímetros para cada sistema de labranza y rotación de cultivos. Se utilizó un diseño experimental de bloques con parcelas divididas, donde las parcelas principales fueron los sistemas de labranza y las subparcelas las rotaciones de cultivos. El mayor rendimiento de grano se encontró en la rotación trigo después de cártamo en SD, superando estadísticamente ($p \leq 0.05$) el rendimiento de trigo en LT (7.2%), pero estadísticamente similar a las rotaciones trigo después de trigo y trigo después de maíz en SD. El tratamiento que presentó el menor índice de cosecha fue el trigo en LT, superado por todos los tratamientos de SD hasta en un 5.9%. Respecto al contenido de MOS, el mejor tratamiento fue SD con la rotación cártamo-trigo a 0-5 cm de profundidad, superando estadísticamente ($p \leq 0.05$) al resto de los tratamientos.

ABSTRAC

With the purpose of determine the impact of direct sowing and crop rotation on soil organic matter and wheat yield (*Triticum durum* Desf) in the dry tropics, a study was conducted in southern Sonora for two years in a clay soil, two tillage and crop rotation systems were evaluated, the systems were traditional tillage (LT) and direct sowing (SD), and rotations wheat-wheat, corn-wheat and safflower-wheat, in LT crop rotation was not used using wheat

as monoculture. The sowing was carried out in the autumn-winter cycles 2015-2016 and 2016-2017, using the CIRNO C2008 crystalline wheat variety. In LT it was fallowed to a depth of 40 cm more two harrowing steps with 20 cm depth, In SD it was sown without moving the soil using a conventional wheat seeder which was fitted with corrugated cutter discs on the front. Soil organic matter (MOS) was obtained at depths 0-5 and 5-10 centimeters for each tillage and crop rotation system. An experimental design of blocks with divided plots was used, where the main plots were the tillage systems and the subplots the crop rotations. The highest grain yield was found in the rotation of safflower-wheat in SD, statistically surpassing ($P \leq 0.05$) the yield of wheat in LT (7.2%), but statistically it was similar to the rotations wheat-wheat and wheat-corn in SD. The treatment that presented the lowest harvest index was wheat in LT, surpassed by all the treatments of SD up to 5.9%. Regarding the content of MOS, the best treatment was SD with the rotation safflower-wheat at 0-5 cm deep, statistically surpassing ($P \leq 0.05$) to the rest of the treatments.

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L. y *Triticum durum* Desf.) genera un ingreso de 12 mil mdp, cifra que le coloca como el 10mo^o cultivo más importante al contribuir con el 2.9% del valor de la producción agrícola. Entre el 2011 y 2013 se establecieron 660 mil hectáreas donde se obtuvo una producción de 3.4 millones de toneladas, siendo Sonora el que aportó 55% de la producción (SIAP 2015). En la actualidad los registros del uso de los sistemas de labranza de conservación son escasos ya que la mayoría de la superficie agrícola se sigue preparando de manera tradicional (LT), que consiste en remover el suelo con cinceles, arados de discos, rastreo y quema de los residuos, lo que lleva a una degradación del suelo e incluso provoca bajos rendimientos en los cultivos (Mora *et al.*, 2001). Las investigaciones con diferentes niveles de labranza realizadas en el país se han limitado a evaluar la respuesta y comparación de resultados con diferentes implementos, como arado, rastra, cinceles, discos cortadores de residuos, mejoradores de suelo orgánicos y/o la combinación de éstos, midiendo algunos parámetros, como el tamaño de estructura final, demanda de combustible y potencia (Cadena *et al.*, 2004).

Después de un laboreo mecánico del suelo, se pueden perder cantidades sustanciales de carbono orgánico del suelo (COS), debido a una aceleración de la descomposición de residuos de cultivos incorporados dentro del suelo (Conant *et al.*, 2007), mientras que la agricultura de conservación favorece la acumulación de C y MOS en formas orgánicas dentro del suelo (Potter *et al.*, 1998; Espinoza *et al.*, 2007 y Martínez *et al.*, 2008) mayormente en la capa superficial de 0 a 7.5 cm (Campbell *et al.*, 1996 y Allmaras *et al.*, 2004), mientras que de 15 a 28 cm no se han encontrado diferentes niveles de COS entre los sistemas de SD y LT (Devine *et al.*, 2014). La rotación de cultivos favorece el rendimiento del cultivo de trigo (Angus *et al.*, 2015) y la SD ha demostrado muchos beneficios en cuanto al mejoramiento de las condiciones físico-químico del suelo, además de efectos positivos en la relación costo-beneficio (Aryal *et al.*, 2014), sin embargo, hay poca información sobre SD en las condiciones de un trópico seco, donde las temperaturas máximas superan los 40 °C durante los meses de verano y las precipitaciones no superan los 300 mm de lluvia al año,

por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar las características del suelo y el rendimiento de trigo bajo dos sistemas de labranza (siembra directa y labranza tradicional), y tres rotaciones de cultivo (trigo-trigo, maíz-trigo y cártamo-trigo) en un suelo de barrial en el sur de Sonora, México.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características del suelo y el rendimiento de trigo bajo dos sistemas de labranza (siembra directa y labranza tradicional), y tres rotaciones de cultivo (trigo-trigo, maíz-trigo y cártamo-trigo) en un suelo de barrial en el sur de Sonora.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el contenido de materia orgánica en el suelo al utilizar siembra directa comparada con labranza tradicional.

Determinar el rendimiento de grano de trigo en siembra directa y labranza tradicional con las rotaciones trigo-trigo, maíz-trigo y cártamo-trigo.

HIPÓTESIS

Es posible producir trigo bajo el sistema de siembra directa, bajando costos de producción, aumentando rendimiento de grano y mejorando las características físico-químicas del suelo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el Sitio Experimental Valle del Mayo, Navojoa, Sonora, área de influencia del Campo Experimental Norman E. Borlaug-INIFAP en un suelo arcilloso (> 50% arcilla), ubicado en las coordenadas (109° 30' N y 27° 00' W) a 39 msnm. La precipitación promedio al año es de 280 mm, y el 75% de la precipitación se presenta en los meses de verano (junio-octubre) y el 25% restantes en los meses de noviembre a marzo. La temperatura promedio anual es de 24 °C y varía de una mínima media anual de 20 °C a una máxima de 31 (Jiménez, 1999).

Los tratamientos evaluados fueron: 1.- trigo sobre trigo en labranza tradicional (LT), 2.- trigo sobre trigo en siembra directa (SD), 3.- trigo sobre maíz en SD y 4.- Trigo sobre cártamo en SD. El terreno donde se estableció el tratamiento de LT siempre se ha manejado de manera convencional, mientras que los tratamientos de SD se establecieron en un suelo manejado en SD durante los últimos cinco años. Las labores realizadas en LT fueron, barbecho utilizando arado de discos a una profundidad de 40 cm y dos pasos de rastra con una profundidad de 20 cm, nivelación y surcado antes de la siembra de trigo, la SD se realizó sin mover las camas de siembra, con una sembradora triguera convencional a la cual se le adaptaron discos cortadores corrugados en la parte frontal. Se utilizó un diseño experimental

de bloques con parcelas divididas, donde la parcela grande fueron los sistemas de labranza y la parcela chica las rotaciones de cultivos.

La siembra se realizó durante los ciclos otoño-invierno 2015-2016 y 2016-2017, dejando descansar el terreno durante los meses de verano. Con el fin de mantener el terreno libre de maleza durante la época de descanso, se aplicaron 3 lt/ha del herbicida glifosato utilizando la marca comercial faena fuerte 360, el cual fue aplicado con una aspersora de 12 boquillas, superpuesta en un tractor Ford cuatro cilindros, con un gasto de agua de 250 l/ha. Se utilizó la variedad de trigo cristalino más sembrada en el sur de Sonora CIRNO C2008. El tamaño de parcela experimental constó de ocho surcos separados a 80 centímetro por 100 metros de longitud (640 m²) por tratamiento. La siembra se realizó en húmedo con una sembradora convencional acondicionada con discos cortadores corrugados en la parte frontal, se sembró en camas de 80 cm de separación a doble hilera, con una separación entre hileras de 35 cm y con una densidad de siembra de 100 kg/ha de semilla, al cultivo se le aplicaron el riego de presembrado y tres riegos de auxilio en las etapas fenológicas de amacollamiento, embuche y llenado de grano, se fertilizó con la fórmula 276-52-00 de N-P-K aplicando la totalidad fósforo y la mitad del nitrógeno en presembrado y el resto del nitrógeno antes del primer riego de auxilio, la fuente de nitrógeno utilizada fue Urea al 46% y el fósforo monoamónico 11-52-00, los cuales se aplicaron en banda. Se aplicó el herbicida Situi® XP 30 gr/ha para el control de maleza de hoja ancha, mientras que para el control del pulgón de follaje (*Schizaphis graminum*) se aplicaron 250 ml/ha del insecticida Muralla Max, ambos productos se aplicaron 35 días después de la siembra en los cuatro tratamientos, con un gasto de agua de 250 l/ha con una aspersora de 12 boquillas, superpuesta en un tractor Ford cuatro cilindros.

Los aspectos agronómicos evaluados fueron: altura de planta, días a floración y madurez fisiológica, la altura de planta se midió en centímetros con una regla métrica, tomando como base desde el nivel del suelo hasta la parte superior de la espiga, la floración se midió en número de días contabilizando desde la fecha de siembra hasta que la parcela presentaba un 50% de plantas en inicio de floración, mientras que la madurez fisiológica se consideró desde la fecha de siembra hasta que el 50% de las plantas entraban en estado de madurez fisiológica. Para evaluar el rendimiento de grano, se cosecharon dos surcos de cinco metros (8 m²) con cuatro repeticiones por tratamiento, los cuales se trillaron con trilladora experimental para extrapolar el rendimiento a kg/ha. Para evaluar el índice de cosecha, de cada tratamiento se cortaron 100 tallos con hojas y espigas al nivel del suelo y se pusieron a secar en una estufa de laboratorio a 60 °C, posteriormente se desgranaron las espigas y se pesó el grano y la paja por separado en una balanza analítica y por diferencia se obtuvo el porcentaje de paja y grano, esto se realizó con cinco repeticiones por tratamiento. Por último se analizó el contenido de MOS, para lo cual se tomaron muestras de suelo de 0-5 y de 5-10 cm de profundidad en cada uno de los cuatro tratamientos por tres repeticiones, las cuales se enviaron al laboratorio para el análisis correspondiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aspectos agronómicos de altura de planta, días a floración y días a madures fisiológica no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, ya que se utilizó la misma variedad de trigo en los cuatro tratamientos durante los tres ciclos agrícolas.

El mayor rendimiento de grano se presentó en la rotación cártamo-trigo en SD, superando estadísticamente ($p \leq 0.05$) el rendimiento de trigo-trigo en LC (7.2%), en un segundo grupo se ubicaron los tratamientos de maíz-trigo y trigo-trigo en SD superando con 0.7 y 0.6% el rendimiento de trigo en LT respectivamente, similar a lo encontrado por Angus et al., 2015, quienes mencionan que el rendimiento de trigo es más elevado cuando se siembra en rotación con otros cultivos. Respecto al contenido de MOS, el tratamiento estadísticamente superior ($p \leq 0.05$) al resto, fue la rotación cártamo-trigo en SD en el nivel de 0-5 cm de profundidad, con un 1.24% de MO, seguido por los tratamientos maíz-trigo y trigo-trigo en SD en el nivel de 0-5 cm, los cuales fueron estadísticamente similares entre sí, con un 0.97% de MO. Los tratamientos que presentaron los niveles más bajos de MOS fueron los de LT, tanto en el nivel de 0-5 cm como en 5-10 cm de profundidad con un 0.65% y 0.57% de MOS respectivamente, misma tendencia encontrada por Reyes et al., 2002 en la rotación trigo maíz bajo el método de SD en la Universidad de Chile. Respecto al índice de cosecha, los tratamientos de SD superaron estadísticamente ($p \leq 0.05$) al tratamiento de LT hasta con un 5.9%

LITERATURA CITADA

- Allmaras, R. R.; Linden, D. R. and Clapp, C. E. 2004. Corn-Residue Transformations into Root and Soil Carbon as Related to Nitrogen, Tillage, and Stover Management. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:1366–1375
- Angus J.F., Kirkegaard J. A., Hunt J.R., Ryan M. H., Ohlander L., and Peoples M. B. 2015. Break crops and rotations for wheat. *Crop & Pasture Science*. DOI: 10.1071/CP14252.
- Aryal, J.P.; Sapkota, T.B.; Jat, M.L.; Bishnoi, D.K. 2014. On-farm economic and environmental impact of zero-tillage wheat: A case of North-West India. *Exp. Agric.* 91,1-16
- Cadena, Z. M.; Gaytán, M. T.; y Zermeño, G. A. 2014. Desempeño de implementos de labranza en términos de consumo de energía y calidad de trabajo. *Revista Agraria Nueva Época*. Vol. 1, No. 3, pp. 12-17.
- Conant, R. T.; Easter, M.; Paustian, K.; Swan, A.; and Williams, S. 2007 Impacts of Periodic Tillage on Soil C Stocks: A Synthesis. *Soil and Tillage Research*. Vol. 95, pp. 1-10.
- Campbell, C. A.; McConkey, B. G.; Zentner, R. P.; Selles, F. and Curtin, D. 1996. Long-term effects of tillage and crop rotations on soil organic c and total N in a clay soil in southwestern saskatchewan. *can. J. Soil Sci* 76: 39H01.

- Devine, S.; Markewitz, D.; Hendrix, P.; and Coleman, D. 2014. Soil aggregates and associated organic matter under conventional tillage, no-tillage, and forest succession after three decades. PLoS ONE 9(1): e84988. doi:10.1371/journal.pone.0084988
- Espinoza, Y.; Lozano, Z.; and Velásquez, L. 2007. Efecto de la rotación de cultivos y prácticas de labranza sobre las fracciones de la materia orgánica del suelo. *Interciencia*, 32(8), 554-559.
- Jiménez, G. E. 1999. El Campo Experimental Valle del Yaqui: su importancia en la producción agrícola en el sur de Sonora. Folleto informativo N° 1. Cd. Obregón, Sonora, México. p:17.
- Martínez, H. E.; Fuentes, E. J. P. y Acevedo, H. E. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *R.C. Suelo Nutr. Veg.*, vol. 8, no. 1, p. 68-96. ISSN 0718-2791
- Mora, G. M.; Ordaz, V. C.; Castellanos, J. Z.; Aguilar S. A.; Gavi, F.; y Volke, H. V. 2001. Sistemas de labranza y sus efectos en algunas propiedades físicas en un vertisol, después de cuatro años de manejo. *Terra Latinoamericana*. Vol. 19, núm. 1, pp. 67-74.
- Potter, K. N.; Torbert, H. A.; Jones, O. R.; Matocha, J. E.; Morrison, J. E. and Unger, P. W. 1998 Distribution and amount of soil organic C in long-term management system in Texas. *Soil Till. Res.* 47: 309-321.
- Reyes, J.I., Martínez, E., Silva, P. y Acevedo, E. 2002. Cero labranza y propiedades de un suelo aluvial de Chile Central. *Proceedings del IX Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Talca, Chile. Boletín N°18:78-81.
- SIAP. 2015. Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA), Sonora, México. <http://www.siap.gob.mx> (Consulta, diciembre 2016).

**EDAD Y CRECIMIENTO EN LANGOSTA *Panulirus gracilis* (CRUSTACEA, DECAPODA)
POR MEDIO DE ESTRUCTURAS CALCIFICADAS. Jennifer Zoe Borrego Durán¹, Raúl
Pérez González², Evlin Aidee Ramírez Félix³, Emigdio Marín Enriquez⁴, Juan Francisco
Arzola González⁵ y Jorge Payán Alejo⁶.**

Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad
Autónoma de Sinaloa Jennifer_facimar@uas.edu.mx

INTRODUCCIÓN

Nuestro país produce anualmente alrededor de 2500 t de langosta, de las cuales la mayoría corresponde a *Panulirus interruptus* en Baja California, con un promedio de 1200 t cada año, y le siguen *P. argus* en las costas del mar Caribe, con aproximadamente entre 700 y 800 t anuales, y por último se toma en cuenta en conjunto la producción promedio de las langostas *P. gracilis* y *P. inflatus* en ambos litorales del golfo de California y las costas del Pacífico, con alrededor de entre 500 y 600 t (Pérez-González, 2002). Las dos últimas especies son las que se explotan en el sureste del golfo de California, particularmente en la costa del estado de Sinaloa, y su pesquería considerada artesanal presenta características muy particulares (Pérez-González, 2006), con una producción anual que oscila alrededor de las 59 t (Anónimo, 2013), lo que contribuye con el 1.79% de la captura nacional (Pérez-González *et al.*, 1992a, 2002).

P. gracilis tiene un ámbito de distribución extenso que va desde Mazatlán, Sinaloa, México, hasta Paita, Perú (Chapa-Saldaña, 1964; Williams, 1986; Holthuis, 1991). Ambas especies coexisten desde la costa oeste de México hasta el golfo de Tehuantepec (Holthuis y Villalobos, 1961; Chapa-Saldaña, 1964; Briones-Fourzán y Lozano Álvarez, 1992).

CRECIMIENTO

Para los organismos de mares tropicales establecer esta relación o la determinación de la edad suele ser difícil debido a la amplitud de las épocas de reproducción, la ausencia de eventos del entorno que se registren en estructuras duras y la variabilidad del crecimiento en los individuos individuales como un reflejo de la complejidad del hábitat. Otra peculiaridad del crecimiento de estos organismos es que tiene lugar solamente una etapa durante la cual los individuos cambian de exoesqueleto (muda o ecdisis), y una vez que el exoesqueleto se consolida (período de intermuda) el crecimiento en longitud se detiene, de tal forma que este proceso se puede representar por una curva en forma de escalera (Zetina-Moguel, 2000).

En cientos de animales acuáticos se pueden contar las bandas de crecimiento encontradas en estructuras duras, como los otolitos de los peces (Campana, 2001) y conchas de bivalvos (Kilada *et al.*, 2012). Sin embargo, ninguna estructura dura se había encontrado en los crustáceos, ni se esperaba que tal estructura existiera, ya que los individuos que mudan se supone que pierden y reemplazan todas las estructuras calcificadas, incluyendo la cutícula (esqueleto) que es donde podrían grabar marcas de crecimiento anual (Vogt, 2012).

Sin embargo, recientemente se han detectado marcas en los exoesqueletos de crustáceos que se sugiere que se utilicen para la asignación directa de edad, igual como se usan las estructuras duras de otros organismos (Leland *et al.*, 2011), aunque persistía la duda de si contiene toda la información de edad por el proceso de mudas continuas del exoesqueleto. Esta duda fue resuelta por Kilada *et al.* (2012), quienes utilizaron calceína para marcar la cutícula de langosta americana y encontraron que la marca fluorescente persistió en la

cutícula después de dos mudas posteriores en las que se añadió el marcador en ejemplares experimentales, comprobando que la cutícula del exoesqueleto de esta especie regenera las marcas que tenía antes de la muda.

ANTECEDENTES

En todos los estudios de crecimiento, la asignación de edad de los organismos es uno de los procesos claves, ya que se desconoce la fecha de nacimiento. El intestino anterior de crustáceos decápodos se puede dividir en tres regiones, la cámara de esófago, cámara anterior y posterior dentro de la cámara anterior se encuentra ubicado el molino gástrico el cual tiene como función de triturar las partículas de alimento para que éstas puedan pasar a través del sistema digestivo. Los principales componentes funcionales del molino gástrico son la cadena de huesecillos zygodiacos opuestos, el centro de huesecillos prepilóricos y los huesecillos pilóricos (Leland *et al.*, 2011). La detección y medición de las bandas anuales de crecimiento preservado en estructuras calcificadas subyace a la evaluación y gestión de las poblaciones de peces explotadas en todo el mundo. Sin embargo, la estimación de crecimiento, mortalidad y otros procesos estructurados por edad en los crustáceos se ha visto gravemente limitada por la aparente ausencia de marcas de crecimiento permanente en estructuras duras. La detección de estas bandas de crecimiento se presenta en las regiones calcificadas del pedúnculo ocular o en el molino gástrico en camarones, cangrejos y langostas. Las marcas químicas en la cutícula de la langosta se mantuvieron durante una o dos mudas que ocurrieron en la duración de un experimento, como aparentemente fue el huesecillo mesocardio que contiene las bandas de crecimiento en el molino gástrico. Las curvas de crecimiento se desarrollaron a partir del examen de banda de crecimiento en múltiples especies, sugiriendo que la medición rutinaria de crecimiento y mortalidad en crustáceos decápodos puede ser posible (Kilada *et al.*, 2012). Saucedo-Luna (2016) realizó cortes longitudinales del pedúnculo ocular y molino gástrico de *Callinectes arcuatus* con el fin de explorar la presencia de marcas de crecimiento y se desarrolló un experimento de laboratorio para identificar la periodicidad de formación de marcas. Se identificaron marcas secundarias de crecimiento, no así las marcas primarias, lo cual se atribuye al corto ciclo de vida de esta especie y el escaso número de ejemplares mayores a un año; sin embargo, la relación entre grosor del pedúnculo ocular se relacionó significativamente con el ancho de cefalotórax, indicando su utilidad para asignación de edad, pero se presentó una alta variabilidad de la relación que aumenta el grado de incertidumbre en la asignación de edad. Se investigó por primera vez el conteo de marcas dentro de la cutícula del pedúnculo ocular como indicador de edad de la langosta azul *Panulirus inflatus* capturada de playa Cerritos a playa Piaxtla, en el sur de Sinaloa. Se detectó que el grosor de la cutícula no crece de manera proporcional al crecimiento de los individuos. El número de marcas con respecto al largo cefalotórax indica que están relacionadas con el crecimiento de las langostas. Los grupos de edad fueron ajustados con un modelo multinomial en él se observaron tres grupos de edad (Borrego-Durán, 2017).

Planteamiento del problema

El problema que aborda esta investigación es la determinación de la edad y crecimiento de las langostas espinosas *Panulirus gracilis* de las costas de sur de Sinaloa, utilizando los pedúnculos oculares, lo anterior es importante para implementar un método directo para

calcular esos parámetros poblacionales con mayor precisión que los obtenidos con métodos indirectos como son los análisis de tallas y la progresión modal.

Las preguntas de investigación que fundamentan el problema son las siguientes:

¿Qué relación existe entre la periodicidad de las marcas del pedúnculo ocular y el molino gástrico y la edad de las langostas?

¿Cómo se puede establecer una correlación entre esas marcas de las estructuras calcificadas y el crecimiento de las langostas?

HIPÓTESIS

El análisis en cortes longitudinales del pedúnculo ocular de la langosta *Panulirus gracilis* permite identificar las marcas de crecimiento y evaluar, mediante la periodicidad de su formación, la edad y crecimiento.

Objetivo

- Determinar la edad y crecimiento de las langostas espinosas *Panulirus gracilis* por medio de estructuras calcificadas.

Objetivos específicos

- Determinar estructura de tallas.
- Estimar la relación longitud-peso.
- Identificar las marcas en las estructuras calcificadas.
- Estimar la edad en *Panulirus gracilis*.
- Estimar el crecimiento en *Panulirus gracilis*.

Metodología

Trabajo de campo

Los organismos de *Panulirus gracilis* se van a recolectar durante la temporada de pesca de noviembre 2018 a junio 2019 proveniente de la pesca ribereña. Los ejemplares de langosta serán capturados utilizando un chinchorro langostero de 120 m de ancho y 90 cm de alto y una embarcación con motor fuera de borda de 115 hp, con la ayuda de los pescadores de la cooperativa punta tiburón que desembarcan en la playa Cerritos en Mazatlán, Sinaloa.

Los datos se registrarán en una bitácora de campo y las medidas biométricas serán tomadas con un calibrador vernier; se considerará la longitud cefalotórax (LC) y ancho de cefalotórax (AC), la primera se tomará desde la base de las espinas rostrales hasta la parte posterior del cefalotórax y la segunda se registrará tomando como base la parte más ancha del cefalotórax. El peso total (pt) se medirá con una balanza digital. Posteriormente se realizará una oculotomía en cada uno de los ejemplares y cada par de pedúnculo ocular se metió dentro de una bolsa de plástico con etiqueta. Así mismo, los organismos serán separados por sexos y se determinará su fase de madurez sexual. Para la diferenciación del sexo se realizará a través de las observaciones del dimorfismo sexual que presentan: hembras con pleópodos birrámeos de gran tamaño, éstos poseen filamentos a los que se adhieren los huevos fertilizados una vez que empiezan a reproducirse, y presentan en el quinto par de pereópodo una quela o pinza: mientras que los machos presentan pleópodos monorrámeos

y pequeños, el segundo par de pereiópodos es más largo y robusto y la presencia de los orificios genitales en la base del quinto par de pereiópodos (Castro-Gutiérrez, 2014).

Trabajo de laboratorio

Con las muestras de pedúnculos oculares obtenidas en el campo se trabajará con su análisis en el laboratorio del programa langosta que se encuentra en la facultad de ciencias del mar, para limpiar las muestras solo se dejara la parte superior del pedúnculo que es con la que se va a trabajar. Una vez limpias las muestras se fijarán en resina epoxica o resina policromo (polímero termoestable que se endurece cuando se mezcla con un agente catalizador) dejándolas en reposo 12 horas para el secado.

Posteriormente las muestras serán trasladadas al área de edad y crecimiento que se encuentra en el laboratorio de biología pesquera para realizar los cortes histológicos de 200, 190 y 180 μm en una cortadora Isomet Buehler con un disco de diamante.

Finalmente, las muestras serán sumergidas en alcohol etílico al 90% para tener una mejor visión de las marcas. Las muestras se observarán en un microscopio estereoscópico Stereo Nikon con cámara integrada para la captura de imágenes. Las imágenes serán capturadas con el software Image-pro plus y mejoradas con Microsoft Office Professional Plus para aumentar el contraste entre las zonas adyacentes de crecimiento.

Trabajo de gabinete.

La relación longitud-peso será estimada entre sexos utilizando el modelo potencial de Ricker (1975) y para verificar si el tipo de crecimiento somático difiere entre sexos se realizará la prueba de hipótesis de comparación de pendientes mediante del estadístico Kimura (1981) y los intervalos de confianza de los parámetros se obtuvieron por log-verosimilitud (Hilborn y Mangel, 1997).

$$PT = \alpha * Lc^{\beta}$$

χ^2 es la Chi-cuadrada, n es igual al número de observaciones de ambas curvas, $rssw$ es el total de la suma de cuadrados de ambas curvas ajustadas por separado y $rss\omega$ es la suma de cuadrados total de la curva ajustada con un contraste de hipótesis.

$$\chi^2 = N * LN \left[\frac{RSS\Omega}{RSS\omega} \right]$$

para definir el tipo de crecimiento se utilizará la prueba t student (Pauly, 1984) para contrastar el valor de β versus el valor teórico tres de crecimiento isométrico.

$$t = \frac{DE x}{DE y} * \frac{\beta - 3}{\sqrt{1 - r^2}} * \sqrt{(n - 2)}$$

Los parámetros de cada modelo serán estimados maximizando la función objetivo de logaritmo negativo de verosimilitud (Hilborn y Mangel, 1997; Aguirre-Villaseñor *et al.*, 2006; Cerdaneres-Ladrón de Guevara *et al.*, 2011) con el algoritmo de búsqueda de Newton (Neter *et al.*, 1996).

$$LL = \left(-\frac{n}{2}\right) * (\ln(2\pi) + 2 * \ln(\sigma) + 1)$$

Para determinar la precisión de los conteos de las marcas efectuados por los lectores de manera independiente, se calculará el porcentaje de error promedio (PEP) (Beamish y Fournier 1981):

$$PEP = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \left[\frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|X_{ij} - \bar{X}_j|}{\bar{X}_j} \right] * 100$$

Crecimiento

Para estimar el crecimiento se utilizarán 5 casos del modelo de Schnute (1981), uno de los cuales equivale al modelo de Von Bertalanffy, con el fin de establecer el modelo que mejor ajuste a los datos de longitud-edad y obtener parámetros de crecimiento de mayor confiabilidad. Con el fin de evaluar los modelos candidatos y seleccionar el mejor, en base al principio de parsimonia, se adoptará la selección multimodelo, en donde varios modelos compiten y simultáneamente son confrontados con los datos (Hobbs & Hilborn, 2006). Se aplicará una técnica estadística basada en la teoría de la información comúnmente utilizada en la selección de modelos. El modelo de información de Akaike (aic_c , por sus siglas en inglés) incorpora información sobre el ajuste, la complejidad y el tamaño de la muestra (Johnson & Omland, 2004). AIC es el criterio de información de Akaike del modelo (Akaike, 1981).

Referencias

- AGUIRRE-VILLASEÑOR H, MORALES-BOJÓRQUEZ E, MORÁN-ANGULO RE, MADRID-VERA J, VALDEZ-PINEDA MC. 2006. INDICADORES BIOLÓGICOS DE LA PESQUERÍA DE SIERRA (*SCOMBEROMORUS SIERRA*) AL SUR DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO. CIENCIAS MARINAS 32: 471–484.
- AKAIKE, H., 1981. LIKELIHOOD OF A MODEL AND INFORMATION CRITERIA. J. ECONOM. 16, 3–14.
- BEAMISH, R.J. Y D.A. FOURNIER, 1981. A METHOD FOR COMPARING THE PRECISION OF A SET OF AGE DETERMINATIONS. CANADIAN JOURNAL OF FISHERIES AND AQUATIC SCIENCES 38: 982–98.
- BORREGO-DURÁN, J. Z. 2017. DETERMINACIÓN DE MARCAS DE CRECIMIENTO EN LANGOSTA *PANULIRUS INFLATUS* POR MEDIO DE ESTRUCTURAS CALCIFICADAS EN LA BAHÍA DE MAZATLÁN. TESIS DE LICENCIATURA. FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA. 39PP.
- CERDENARES-LADRÓN DE GUEVARA, G., E. MORALES-BOJÓRQUEZ & R. RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ. 2011. AGE AND GROWTH OF THE SAILFISH *ISTIOPHORUS PLATYOTERUS* (ISTIOPHORIDAE) IN THE GULF OF TEHUANTEPEC, MEXICO. MARINE BIOLOGY RES. 7: 488-499.
- HILBORN R. AND M. MANGEL, 1997. THE ECOLOGICAL DETECTIVE. CONFRONTING MODELS WITH DATA. MONOGRAPHS IN POPULATION BIOLOGY. PRINCETON ACADEMIC PRESS, NEW JERSEY, 330 PP.
- KILADA R. ET AL. DETERMINACIÓN DIRECTA DE LA EDAD EN CAMARONES, CANGREJOS Y LANGOSTAS. NRC RESEARCH PRESS FISH. AQUAT. SCI. 69: 1728–1733, 2012.
- LELAND, J., J. COUGHRAN Y D. BUCHER, 2011. A PRELIMINARY INVESTIGATION IN TO THE POTENTIAL VALUE OF GASTRIC MILLS FOR AGEING CRUSTACEANS. NEW FRONTIERS IN CRUSTACEAN BIOLOGY: PROCEEDINGS OF THE TCS SUMMER MEETING, TOKYO JAPAN, 20–24 SEPTEMBER 2009.

- NETER, J., KUTNER, M., NACHTSHEIM, C., AND WASSERMAN, W. (1996), *APPLIED LINEAR STATISTICAL MODELS*, MCGRAW-HILL COMPANIES, INC., NY.
- PAULY, D., 1984. FISH POPULATION DYNAMICS IN TROPICAL WATERS: A MANUAL FOR USE WITH CALCULATORS. ICLARM STUDIES AND REVIEWS 8, MANILA: 32 P.
- PÉREZ-GONZÁLEZ, R., M. L. VALADEZ, I. MUÑOZ-GARCÍA, M. I. BORREGO Y B. MEJÍA SARMIENTO. 2002. MÉTODOS DE PESCA EN LA CAPTURA DE LANGOSTA *PANULIRUS* (WHITE 1847) Y SUS IMPLICACIONES EN EL MANEJO DEL RECURSO EN LAS COSTAS DEL PACÍFICO MEXICANO. MEM. I FORO CIENTÍFICO DE PESCA RIBEREÑA. INSTITUTO NACIONAL DE LA PESCA. CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN PESQUERA. GUAYMAS SONORA, MÉXICO. 17-18
- PÉREZ-GONZÁLEZ, R., 2006. LA PESCA DE LANGOSTAS *PANULIRUS* SPP. CON REDES AGALLERAS EN EL SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO: UNA PESQUERÍA MULTIESPECÍFICA. PP. 65-78.
- RICKER WE. COMPUTATION AND INTERPRETATION OF BIOLOGICAL STATISTICS OF FISH POPULATION. J FISH RES BOARD CAN. 1975; 191:1-382.
- SCHNUTE J (1981) A VERSATILE GROWTH MODEL WITH STATISTICALLY STABLE PARAMETERS. CAN. J. FISH. AQUAT. SCI. 38: 1128-1140.
- VOGT, G. 2012. AGEING AND LONGEVITY IN THE DECAPODA (CRUSTACEA): A REVIEW. ZOOLOG. ANZ. 251(1): 1–25. DOI: 10.1016.
- ZETINA-MOGUEL, C. E. Y G. V. RÍOS-LARA. 2000. MODELOS DE CRECIMIENTO DE LANGOSTA ESPINOSA (*PANULIRUS ARGUS*) Y UN MÉTODO PARA CALCULAR LA EDAD. INP. SAGARPA. MÉXICO. CIENCIA PESQUERA NO. 14

VALORACIÓN DE INDICADORES RELACIONADOS AL BIENESTAR EN BOVINOS PRODUCTORES DE CARNE EN EL TRÓPICO SECO Ana Citlaly Zazueta Gutiérrez,
Francisco Gerardo Ríos Rincon, Jesús David Urías Estrada, Alfredo Estrada Angulo, Jesús José Portillo Loera, Beatriz Isabel Castro Pérez
Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Universidad Autónoma de Sinaloa.
ana_citlaly@hotmail.com

RESUMEN

Para valorar los indicadores fisiológicos, etológicos y productivos relacionados al bienestar de bovinos productores de carne en finalización intensiva en el trópico seco, será desarrollado un estudio observacional descriptivo, con duración de dos años en referencia a las cuatro estaciones del año. La temperatura ambiental y la humedad relativa se registrarán diariamente. El índice de calor y humedad (ITH) será calculado. Se registrarán las variables: animal de pie, comiendo o bebiendo, echado dentro y fuera del área de sombra, topetazos, desplazamientos, peleas, acicalamientos, olfateos, vocalización, amenazas y reflejo de Flehmen. La temperatura corporal de los bovinos se obtendrá mediante termómetro infrarrojo y la frecuencia respiratoria por observación de movimientos del tórax en animales pre-seleccionados, así como la valoración de jadeos. Se utilizará un método no invasivo para medir la concentración fecal de cortisol. Se registrarán las variables productivas: peso promedio individual, peso vivo final, ganancia diaria de peso, consumo de materia seca y conversión alimenticia. Para las variables etológicas y fisiológicas, la unidad de observación será cada corral. Los valores de variables etológicas se convertirán a porcentajes. Para los valores de temperatura ambiental, humedad relativa e ITH se calcularán las estadísticas descriptivas por época y semana de observación y se analizarán con un modelo lineal general, similar para las variables conductuales. Las variables productivas se analizarán en forma similar a las variables conductuales. El valor de alfa máximo para aceptar diferencia estadística en todos los análisis será de 0.05.

ABSTRACT

With the objective of value the physiological, ethological and productive indicators related to animal welfare on beef cattle in feedlot in dry tropics, a descriptive observational study will be developed, with a duration of two years in reference to the four seasons of the year. The environmental temperature and relative humidity were recorded daily in each feedlot under study. Temperature and humidity index (THI) will be calculated. The following variables will be recorded: animal stopped, eating or drinking, lying inside and outside the shadow area, bumps, displacements, fights, preening, sniffing, vocalization, threats and Flehmen sign. Cattle body temperature will be recorded by infrared thermometer; the respiratory rate will be made by observing torax movements in pre-selected animals, as well as the assessment of gasp. A non-invasive method will be used to measure the faecal concentration of cortisol. The productive variables will be recorded: individual average weight, final live weight, average weight gain, dry matter intake and feed conversion. For the ethological and physiological variables, the unit of observation will be each pen. The values of ethological variables will be

converted to percentages. For the values of temperature, humidity and THI, the descriptive statistics will be calculated by time and week of observation and analyzed with a general linear model, similar for the behavioral variables. The productive variables will be analyzed in a similar way to the behavioral variables. The maximum alpha value to accept statistical difference in all the analyzes will be 0.05.

INTRODUCCIÓN

La globalización del comercio en asociación con una ascendente demanda de proteína animal para consumo humano, han dado lugar a un aumento en el número de animales criados, transportados y sacrificados en todo el mundo, lo cual ha agudizado problemas de bienestar en los puntos de la cadena productiva (Miranda de la Lama, 2013). Por esta razón, el bienestar animal se identificó como una prioridad desde el Plan Estratégico de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) 2001-2005, para promover principalmente el establecimiento de guías para manejo del ganado y control de enfermedades (Sejian *et al.*, 2011). A lo largo de la evolución, las especies animales han desarrollado mecanismos fisiológicos y conductuales para enfrentar situaciones de estrés; cuando se ve amenaza la comodidad y vitalidad del ganado, se produce un cambio biológico que pone en riesgo el confort y la salud (Odeón y Romera, 2017). El estrés como indicador de pérdida de bienestar animal es definido como la acción de estímulos nerviosos y emocionales provocados por el ambiente sobre los sistemas nervioso, endócrino, circulatorio y digestivo, produciendo cambios medibles en los niveles funcionales de estos sistemas al alterar la homeostasis interna, induciendo cambios en la actividad del sistema nervioso autónomo y en el eje hipotálamo hipófisis adrenocortical (HPA) (Broom, 2003; Romero *et al.*, 2011). Las bases para determinar las necesidades de los animales se deducen a menudo de situaciones en las cuales hay alguna alteración en su ambiente (Albright y Arave, 1997). La alteración del BA producido por un desafío ambiental, puede ser evaluado en dos niveles: en primer lugar, la magnitud de las respuestas fisiológicas y de comportamiento y, en segundo lugar, el costo biológico de estas respuestas (Solano, 2004; Colditz 2007). Las mediciones basadas en el animal que toman importancia a la hora de medir el bienestar son la condición física como la condición corporal, la cual es utilizada para estimar las reservas energéticas del animal (Edmonson *et al.*, 1989), conformación de las pezuñas, limpieza del pelaje, alopecias, presencia de heridas, entre otras (Whay *et al.*, 2003). Sejian *et al.* (2011), agrupan la evaluación del bienestar animal en cuatro grandes rubros: Indicadores Conductuales (mordisqueos de las instalaciones, amenazas, montas, topetazos), Indicadores Físicos (lesiones corporales, abscesos, cojeras, alopecias), Indicadores Fisiológicos (nivel de cortisol, reducción del consumo de alimento, frecuencia cardiaca y respiratoria alterada, jadeos, inmunosupresión y actividad adrenal) e Indicadores Productivos (reducción de la ganancia, retraso en el crecimiento, disminución de los rendimientos), y las que se refieren al comportamiento del animal: por ejemplo, zona de fuga, agresividad, interacción social, actividad ruminal, por mencionar algunas (Molony y Kent 1997, Whay *et al.*, 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La principal actividad pecuaria en el estado de Sinaloa es la producción de carne bovina en finalización intensiva; en cada ciclo de engorda se producen 195 mil bovinos; cada año se llevan a cabo 2.1 ciclos que equivalen a 410,000 bovinos finalizados, esta actividad

representa el 85 % de la producción total pecuaria, que en valor económico corresponden 10,291 millones de pesos al año. Por la ubicación geográfica del estado de Sinaloa (trópico seco), la temperatura anual máxima promedio es superior a los 36 °C que sumada a la elevada humedad relativa mayor al 50 % durante la mayor parte del año, comprometen la productividad y el bienestar de los bovinos en finalización intensiva; por tal motivo es necesario promover una estrategia para cuantificar y valorar los indicadores conductuales, fisiológicos y productivos de los bovinos en confinamiento en las condiciones climáticas de la región centro de Sinaloa relacionados con el bienestar de los bovinos en este punto de la cadena productiva para certificar la trazabilidad de la carne.

HIPÓTESIS

El conjunto de indicadores etológicos, fisiológicos y productivos impactan favorablemente en el bienestar de los bovinos productores de carne finalizados intensivamente bajo las condiciones climáticas de la región centro del estado de Sinaloa.

OBJETIVO GENERAL

Valorar los indicadores fisiológicos, conductuales y productivos de bovinos productores de carne en finalización intensiva bajo condiciones climáticas de la región centro del estado de Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Relacionar los indicadores fisiológicos de bovinos productores de carne en finalización intensiva con las condiciones climáticas de la región centro del estado de Sinaloa.

Relacionar los indicadores etológicos de bovinos productores de carne en finalización intensiva con las condiciones climáticas de la región centro del estado de Sinaloa.

Relacionar los indicadores productivos de bovinos productores de carne en finalización intensiva con las condiciones climáticas de la región centro del estado de Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevará a cabo en una Unidad de Producción Pecuaria (UPP), ubicada en Culiacán, Sinaloa (24° 38' 58" N y 107° 17' 10" O; 70 msnm; clima (BS₁ (h')w(w)(e)), el cual se define como un clima semiseco, muy cálido, extremoso con lluvias de verano (García, 1988). El estudio observacional prospectivo tendrá una duración de dos años; con referencia a las cuatro estaciones del año, se registrarán las variables ambientales, y los indicadores etológicos, fisiológicos y productivos, durante 6 semanas en 12 corrales de engorda por cada estación del año, seleccionados conforme al inventario disponible en la UPP. En cada corral de finalización intensiva se registrarán las características fenotípicas de los bovinos: sexo, tipo racial, presencia de cornamenta, condición corporal y estado de procedencia u origen. En cada corral de engorda se registrarán: superficie, comedero y bebedero disponible, área y tipo de sombra, y en su caso presencia de lodo, con base a la escala propuesta por Grandin (2016). La temperatura ambiental y la humedad relativa se registrarán mediante termohigrómetros digitales colocados dentro de cada corral de engorda objeto de estudio. El

índice de calor y humedad será calculado mediante la fórmula: $ITH = 0.81 \times T + [(HR/100) \times (T - 14.40)] + 46.40$ (Hahn, 1999), donde T es la temperatura ambiental en grados Celsius y HR es la humedad relativa expresada en porcentaje. Se registrarán las siguientes variables: animal parado, comiendo o bebiendo, echado dentro y fuera del área de sombra, topetazos, desplazamientos, peleas, ahuyentar con contacto, lengüeteo social, vocalización, amenazas, estornudos, tosidas y posición de Flehmen (Marti *et al.*, 2015). Los indicadores se cuantificarán a las 8:00, 12:00 y 16:00 horas. La temperatura corporal de los bovinos se registrará mediante técnica no invasiva con termómetro infrarrojo; la frecuencia respiratoria se realizará por observación de movimientos del tórax en animales pre-seleccionados.

Para el registro y valoración de jadeos se tomará como base la propuesta de Mader *et al.*, (2002). La determinación de la concentración de cortisol, se llevará a cabo de acuerdo con el siguiente protocolo: las muestras serán tomadas durante tres días iniciando el día de llegada después del reimplante, y posteriormente dos veces más días igualmente espaciados con referencia al día de cierre del corral para cada grupo en su respectivo periodo. Se utilizará un método no invasivo para medir el cortisol presente en heces, las concentraciones fecales de cortisol, se hará siempre a la misma hora, dentro de los 10 min siguientes a la defecación. Las muestras se recolectarán en bolsas de plástico que se mantendrán en hielo hasta llegar al laboratorio, donde se almacenarán a -20 °C hasta su procesamiento. Todas las muestras serán procesadas de acuerdo con lo descrito por Graham *et al.* (2001). El peso inicial y el peso final del lote se obtendrán de los registros que la empresa dispone de cada corral de finalización. El peso promedio individual se calculará dividiendo el peso total de los animales de cada corral entre el número de bovinos al final del periodo de engorda. El peso vivo final se calculará utilizando el mismo método durante el pesaje por las mañanas cuando se enviará el ganado al matadero. Las servidas diarias de alimento se multiplicarán por 0.7767 (Hagenmaier *et al.*, 2016) para ajustar el contenido de materia seca (MS) y se dividirá entre el número de animales por corral para determinar el consumo de materia seca (CMS) por animal; la conversión alimenticia se calculará con base al CMS entre la ganancia diaria de peso, la cual se determinará mediante la diferencia del peso final y el peso inicial del lote entre el número de animales y el número de días en finalización.

Análisis estadístico. Para las variables etológicas y fisiológicas, la unidad de observación será cada corral. En el caso de las etológicas los valores registrados se convertirán a porcentajes utilizando la fórmula: $\text{porcentaje de conducta} = (\text{valor observado} \times 100) / \text{número de animales en el corral}$. Después de probar normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (prueba de Bartlett), se realizará ANDEVA con un modelo lineal general. Para los valores de temperatura, HR e ITH se calcularán las estadísticas descriptivas por época y semana de observación y se analizarán con el mismo modelo lineal general de las variables conductuales. Las variables de peso vivo inicial, peso vivo final y consumo de materia seca se analizarán en forma similar a las variables conductuales. El valor de alfa máximo para aceptar diferencia estadística en todos los análisis será de 0.05.

LITERATURA CITADA

Albright J., Arave C. 1997. Behavioural responses to management systems. In: The Behaviour of Cattle. CAB International, Oxon, UK, Pp 127-153. ISBN: [0851991963](#)

Broom D.M. 2003. Transport stress in cattle and sheep with details of physiological, ethological and other indicator. Dtsch Tierärztl Wschr. 110:83-89. ISSN: 0366-9904. file:///C:/Users/ana_c/Downloads/543Broom2003Transportstresscattlesheep.pdf.

Colditz I.G., Ferguson D.M, Greenwood P.L., Doogan V.J., Petherick J.C., Kilgour R.J. 2007. Regrouping unfamiliar animals in the weeks prior to slaughter has few effects on physiology and meat quality in Bos Taurus feedlot steers. Aust J Agri Res; 47:763-769. ISSN: 1836-5787. <https://doi.org/10.1071/EA05114>

Edmonson A.J., Lean I.J., Weaver L., Farver T., Webster G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. J Dairy Sci. 72:68-78. ISSN: 0022-0302. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79081-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0)

Graham L., Schwarzenberger F., Möstl E., Galama W., Savage A. 2001. A versatile enzyme immunoassay for the determination of progestogens in feces and serum. Zoo Biol. 20:227–36. ISSN: 1098-2361. <https://doi.org/10.1002/zoo.1022>

Grandin T. 2016. Evaluation of the welfare of cattle housed in outdoor feedlot pens. Vet. Anim. Sci.1:23–28. ISSN: 2451-943X. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2016.11.001>

Hagenmaier J.A., Reinhardt C.D., Bartle S.J., Thomson D.U. 2016. Effect of shade on animal welfare, growth performance, and carcass characteristics in large pens of beef cattle fed a beta agonist in a commercial feedlot. J. Anim. Sci. 94:5064-5076. ISSN: 1525-3163. 10.2527/jas.2016-0935

Hahn G.L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. J. Dairy Sci. 82 (Suppl. 2): 10–20. ISSN: 0022-0302. https://doi.org/10.2527/1997.77suppl_210x

Mader T.L., Holt S.M., Hahn G.L., Davis M.S., Spiers D.E. 2002. Feeding strategies for managing heat load in feedlot cattle. J. Anim. Sci. 80:2373-2382. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.1093/ansci/80.9.2373>

Marti S., Devant M., Amatayakul-Chantler S., Jackson J.A., Lopez E. Janzen E.D., Schwartzkopf-Genswein K.S. 2015. Effect of anti-gonadotropin-releasing factor vaccine and band castration on indicators of welfare in beef cattle. J. Anim. Sci. 93:1581–1591. ISSN: 1525-3163. 10.2527/jas.2014-8346.

Miranda de la Lama G.C. 2013. Transporte y logística pre-sacrificio: principios y tendencias en bienestar animal y su relación con la calidad de la carne. Veterinaria México. 44:31-56. ISSN 0301-5092. <http://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v44n1/v44n1a4.pdf>.

Molony V., Kent J. 1997. Assessment of acute pain in farm animals using behavioural and physiological measurements. J. Anim. Sci 75:266-272. ISSN: 1525-3163. <https://doi.org/10.2527/1997.751266x>

Odeón M.M., Romera S.A. 2017. Estrés en ganado: causas y consecuencias. Revista Veterinaria. 28:69-77. ISSN: 1669-6840. http://www.produccion-animal.com.ar/etologia_y_bienestar/bienestar_en_general/91-estres_en_ganado.pdf

OIE. (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2011. Código sanitario para los animales terrestres. Capítulo 7.9. Vigésima edición. Paris, Francia. <http://www.oie.int/es/normas/codigo-terrestre/acceso-en-linea/>

Romero P.M.H., Uribe-Velásquez L.F., Sánchez V.J. A. 2011. Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. Biosalud, 10:71-87. ISSN 1657-9550. <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v10n1/v10n1a07.pdf>

Sejian V., Lakritz J., Ezeji T., Lal R. 2011. Assessment methods and indicators of animal welfare. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. 6:301-315. ISSN: 1683-9919. Doi:10.3923/ajava.2011.301.315.

Solano J., Galindo F., Orihuela A., Galina C.S. 2004. The effect of social Rank on the physiological response during repeated stressful handling in Zebu cattle (*Bos indicus*). *Physiol Behav*; 82:679-683. ISSN: 0031-9384. [10.1016/j.physbeh.2004.06.005](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.06.005)

Whay H. R., Main D., Green L. Webster A.J.F. 2003. Assessment of the welfare of dairy cattle using animal-based measurements: direct observations and investigation of farm records. *Vet. Rec.*153:197-202. ISSN: 2042-7670. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.153.7.197>

IDENTIFICACIÓN DE *FUSARIUM* SPP. ASOCIADAS A LA PUDRICIÓN BASAL EN CEBOLLA EN SINALOA, MÉXICO Martin Abraham Tirado Ramirez^{✉1}, Carlos Alfonso López Orona^{✉2}, Tomás Díaz Valdés², Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz², Sixto Velarde Félix², Ángel Roberto Martínez Campos³.

¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias del Colegio de Ciencias Agropecuarias (UAS), ²Facultad de Agronomía (UAS), ³Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales (UAEMex), A. C. Autor para correspondencia tiradoma6@hotmail.com y clopezorona@uas.edu.mx.

RESUMEN

El cultivo de cebolla es de las principales hortalizas cultivadas alrededor del mundo, sin embargo la producción se ve afectada por la pudrición basal causada por *Fusarium* spp. Por lo que el objetivo de este estudio es identificar las especies de *Fusarium* encontradas en la zona centro-norte del estado de Sinaloa, así como también, evaluar la patogenicidad de cada una de ellas. A través de un muestreo dirigido, se colectaron plantas de cebolla y se aislaron cultivos monóspóricos, sometiéndose posteriormente a una prueba de patogenicidad en plántulas de cebolla, identificándose tres especies. El aislamiento más patogénico fue *F. brachygibbosum* (Fb20) con 75 % de severidad, seguido por *F. falciforme* (Ff05) con 58.33 % y por último a *F. oxysporum* (Fo24 y Fo12) con 58.33 y 50 % de severidad respectivamente, sin mostrar diferencia significativa entre ellos, pero si mostraron diferencia significativa con el tratamiento control. Los aislamientos más patogénicos a través de secuenciación fueron depositados en el banco de genes. Se determinó que *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum* y *F. falciforme* son el agente causal de la pudrición basal en el cultivo de cebolla en la zona centro-norte del Estado de Sinaloa.

Palabras clave: identificación, Fusarium, Patogenicidad.

ABSTRACT

Onion cultivation is one of the main vegetables cultivated around the world, however, production is affected by basal rot caused by *Fusarium* spp. Therefore, the objective of this study is to identify the *Fusarium* species found in the central-northern zone of the state of Sinaloa, as well as to evaluate the pathogenicity of each one of them. Through a directed sampling, onion plants were collected and monosporic cultures were isolated, subsequently undergoing a pathogenicity test on onion seedlings, identifying three species. The most pathogenic isolation was *F. brachygibbosum* (Fb20) with 75% severity, followed by *F. falciforme* (Ff05) with 58.33% and finally *F. oxysporum* (Fo24 and Fo12) with 58.33 and 50% severity respectively, without showing significant difference between them, showing significant difference with the control treatment. The most pathogenic isolates through sequencing were deposited in the gene bank. It was determined that *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum* and *F. falciforme* are the causal agent of basal rot in the cultivation of onions in the central-northern zone of the State of Sinaloa.

Keywords: identification, Fusarium, Patogenicity

INTRODUCCIÓN

México se encuentra en el 11vo lugar de producción de cebolla a nivel mundial, ya que se registró una superficie sembrada de 51 504 ha, de las cuales, el estado de Sinaloa participo con 2 559.80 ha, con una producción de 48 126.05 t (SIAP, 2016), por lo cual, el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) es una las principales hortalizas que se cultivan en México debido a su alto consumo, superficie sembrada, generación de empleos y divisas que genera (Pulido *et al.*, 2011). Sin embargo, una de las limitantes que afectan el éxito de la producción, se relaciona con la pudrición basal, que de acuerdo con Pulido *et al.* (2008), es causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. Dicha enfermedad, presenta síntomas de coloración café en las puntas de las hojas, las que se van tornando rojizas o púrpuras cuando el patógeno logra extenderse hasta la base de las hojas. También puede haber enanismo en la planta, los bulbos esponjosos y bulbos de consistencia blanda y raíces con coloraciones de color café a rojo (Velázquez y Medina 2004); así mismo, pueden manifestarse en forma de daños por *damping-off* o una reducción en la germinación de la semilla (Dissanayake *et al.* 2009); ocasionando pérdidas arriba del 50 % en el campo, adicionando además, pérdidas en almacenamientos, debido al progreso de la enfermedad e infecciones mezcladas con otros patógenos (McDonald *et al.* 2007).

Sin embargo, diferentes autores muestran algunos síntomas similares a la enfermedad causados por *Fusarium proliferatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, y *Fusarium acuminatum* en Estados Unidos, Turquía, Venezuela, Uruguay, Países Bajos, Japón, Serbia, España y México (Dissanayake *et al.* 2009; Ochoa *et al.* 2012; Palmero *et al.* 2012).

En el 2016, en la zona centro-norte del estado de Sinaloa (Angostura, Mocorito y Sinaloa de Leyva) que es productora de cebolla, diferentes campos fueron muestreados por presentar síntomas similares a la enfermedad de la producción basal, tales como, hojas amarillentas y/o necróticas a partir de la punta de las hojas, desarrollándose progresivamente hacia abajo, enanismo en las plantas, bulbos blandos, entre otras, provocando en algunos campos, pérdidas arriba del 40 % debido a que los bulbos no engordaron y/o que presentaron consistencia blanda; las plantas colectadas fueron llevadas para su análisis en laboratorio. Con base en la sintomatología, se creía que el agente causal era *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Pulido *et al.* 2008). Sin embargo, en la identificación morfológica se presentaron estructuras diferentes a *Fusarium oxysporum*, de acuerdo a las propuestas por Leslie y Sumerelle (2006).

Mediante la biología molecular, y específicamente la Polymerase chain reaction (PCR) se han mostrado resultados confiables en la identificación de diferentes patógenos en planta (O'Donnell 2000). Geiser *et al.* (2004) proponen el gen Internal Transcribed Spacer (ITS), y más específicamente el Translation Elongation Factor 1- α (TEF1- α) para identificar *Fusarium* spp, ya que de acuerdo con Moine *et al.* (2014), para un apropiado manejo de la enfermedad se requiere de una identificación real del patógeno.

Es por lo anterior, que el objetivo de este estudio fue identificar las especies de *Fusarium* encontradas en la zona centro-norte del estado de Sinaloa, así como también, evaluar la

patogenicidad de cada una de las especies, ya que no existen reportes detallados sobre la enfermedad de la pudrición basal.

MATERIALES Y MÉTODOS

En octubre del 2016, En la zona centro-norte del estado de Sinaloa, área más representativa en cuanto a superficie de cebolla sembrada, se colectaron 95 muestras de plantas de cebolla que presentaban síntomas de amarillamiento de las hojas a partir de las puntas hacia abajo, ligero enanismo en la planta, bulbos blandos y raíces de coloración café rojizo. Las muestras fueron inmediatamente cortadas de manera longitudinal a través del bulbo y se realizaron cortes de tejidos de aproximadamente 5 mm de longitud para ser desinfectadas con 2 % de NaOCl (2 min), 70 % de alcohol (2 min) y agua destilada (5 min), posteriormente se secó en papel estéril para sembrarse en caja Petri en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), dejando desarrollar el hongo a 25 °C por cinco días.

Aislamiento de cultivos monospóricos

Para la obtención de cultivos monospóricos se siguió la metodología descrita por Hansen y Smith (1932), que consiste en cortar un pequeño fragmento del micelio crecido en medio PDA, el cual fue diluido en 1.0 mL de agua destilada estéril y mediante diluciones seriadas se sembró en nuevas cajas Petri con medio PDA. Dos días después se observaron al microscopio, ubicando esporas individuales germinadas, las cuales se transfirieron a una nueva caja de Petri con medio PDA suplementado con PCNB y cloranfenicol, incubándose a 25 °C por cinco días. 18 aislamientos monospóricos se sembraron sobre Carnation Leaf Agar (CLA) para proceder a la identificación de las especies de los aislamientos del hongo (Fisher et al. 1982)

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

18 aislamientos monospóricos se sometieron a un análisis de PCR. Para la extracción de DNA se siguió la técnica descrita por Ausubel *et al.* (2003), la cual consiste en colectar el micelio con ayuda de un asa bacteriológica y transferirlo a un mortero, para ser pulverizado con ayuda de un pistilo previamente esterilizado, utilizando para ello, nitrógeno líquido (-196 °C); el polvo resultante se transfiere a un tubo Eppendorf donde se agrega 2 mL de la solución de extracción CTAB al 2 % (100 mM de Tris.Cl (pH 8), 20 mM de EDTA (pH 8) y 1.4 M de NaCl); a la mezcla homogénea se le agrega un volumen de 24:1 de cloroformo-alcohol isoamílico y se centrifuga. Se extrae la fase acuosa y se agrega 1/10 volumen 65 °C de solución CTAB/NaCl y se vuelve a centrifugar para recuperar la fase acuosa y posteriormente, agregar 1 volumen de la solución de precipitación CTAB 1 % (50 mM de Tris.Cl (pH8), 10 mM de EDTA (pH 8)) y centrifugar a 4 °C; se remueve sin tocar la fase sobrenadante y se agrega el buffer TE de alta sal (10 mM de Tris.Cl (pH 8), 0.1 mM de EDTA (pH 8) y 1 M NaCl); posteriormente, se precipita añadiendo 0.6 volumen de isopropanol y centrifugar a 4 °C; por último, lavar la pastilla con etanol al 80 %, secar y resuspender en un mínimo volumen de TE (0.1 a 0.5 ml por gramo de DNA).

El DNA extraído de aislamientos de *Fusarium* fue analizado por PCR con el primers ITS1 y ITS4 (ITS), así como también, el gen EF-1 y EF-2 (TEF1- α) propuestos por Geiser *et al.* (2004) and O'Donnell *et al.* (1998). La mezcla de la reacción final (25 μ L) contenía 1.5 μ L de DNA, una mezcla de dNTPS (10 mM), primers (10 mM), MgCl₂ (25 mM), buffer PCR, 5U de *Taq* DNA polymerase. Las Secuencias de todos los primers y condiciones de PCR se muestran en la tabla 2.

Secuencia enzimática

Se seleccionaron los aislamientos que presentaron mayor índice de severidad de enfermedad en la patogenicidad; y el producto PCR fue enviado a purificar y a secuenciar, a la empresa MacroGen Korea en Seúl, Corea. La similitud de las secuencias de ADN fueron buscadas usando el programa BLAST, por lo cual, la secuencia de nucleótidos en este estudio fueron comparadas con la base de datos del GenBank en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

Prueba de patogenicidad

Para la patogenicidad sobre plantas de cebolla, se siguió la metodología descrita por Taylor *et al.* 2013 para la inoculación del patógeno, y para la evaluación del índice de severidad de la enfermedad (DSI), se utilizó la metodología descrita por Lomas-Cano *et al.* (2016) y Galanihe *et al.* (2004).

Se estableció un diseño completamente al azar con 3 repeticiones (3 plantas por repetición) con cada uno de los 18 aislamientos monospóricos (el experimento se repitió).

Condiciones de cultivo. Se sembró semilla de la variedad carta blanca en charolas de polietileno de 200 cavidades (previamente desinfectada con hipoclorito sódico al 2 % durante 24 horas) sobre sustrato turba de la marca peat moss (previamente esterilizado en autoclave por 1 h a 120 °C). La variedad se seleccionó de acuerdo a la se encontraba en los sitios muestreados. Las plantas fueron cultivadas en invernadero por 45 días a 25 y 20 °C con 70 % de humedad relativa (RH) y un fotoperiodo a 14-h antes de la inoculación. Las plantas fueron irrigadas diariamente y fertilizadas semanalmente (20-20-20; 6 mg/litro de agua).

Inoculación del patógeno. A los 45 días, las plantas de cebolla fueron trasplantadas en macetas de polietileno desinfectadas, utilizando sustrato peat moss esterilizado (3 plantas por caja), posteriormente, el sustrato fue inoculado con 20 mL de inóculo a una concentración de 10⁵ UFC por mL de cada aislamiento en agua estéril. El inóculo fue obtenido de micelio crecido en medio de cultivo PDA durante 7 días. Las plantas se mantuvieron en invernadero estéril por 60 días con un fotoperiodo de 14-h a 400 lux y temperaturas de 23 a 26 °C. Las plantas fueron irrigadas diariamente y fertilizadas semanalmente (20-20-20; 6 mg/litro de agua).

Las plantas fueron sometidas a una evaluación de severidad de la enfermedad mediante una escala de patogenicidad propuesta por Marlatt *et al.* (1996), donde: 0 = plantas sin síntomas; 1 = \geq 10 % de síntomas en hojas; 2 = ligera clorosis, marchitez o retraso en el crecimiento de la planta 3 = moderada clorosis, marchitez o retraso en el crecimiento de la

planta; 4 = plantas muertas. El índice de severidad de la enfermedad (DSI) se calculó con la fórmula propuesta por Galanihe *et al.* (2004):

$$DSI = \sum [P \times Q / M \times N] \times 100$$

Donde P = punto de severidad; Q = número de plantas infectadas con alguna escala; M = total de número de plantas observadas; N = máxima clasificación en el número de la escala. El primer ensayo se realizó el 2 de octubre del 2017 y finalizó el 30 de noviembre; el segundo ensayo se realizó en diciembre del 2017. A los 60 días, después de la inoculación del patógeno, las plantas infectadas fueron reaisladas para completar los postulados de Koch.

Análisis de datos

Los datos obtenidos de ambas prueba de patogenicidad, fueron sometidos a un análisis de varianza no paramétrica con Kruskal-Wallis y la prueba de medias de Dunn ($p \leq 0.05$), en orden para determinar diferencia significativas de virulencia entre los aislamientos. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el software SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS

Identificación morfológica

El crecimiento del hongo en medio de cultivo PDA, siguió una consistencia uniforme en la morfología, producción de algodón, colonias blancas, amarillentas y rosadas. Los 18 aislamientos fueron identificados sobre medio CLA, observándose en el microscopio, que todos los aislamientos forman conidióforos y microconidias típicas del genero *Fusarium*. Sin embargo, el aislamiento Ff05, al igual que el Fb20, presentaron diferentes estructuras morfológicas del hongo, respecto a todos los demás, identificados como *Fusarium oxysporum*; dando una mayor frecuencia encontrada a *F. oxysporum* (88.88 %), *F. falciforme* (5.55 %) y *F. brachygibbosum* (5.55 %).

Las características morfológicas para *F. oxysporum*, en el caso de macroconidias (21.9 a 30.2 x 4.0 a 6.0 μm), se observaron de tres a cuatro septas, con células basales en forma de pie, y microconidias (6.1 a 14.8 x 2.6 y 4.5 μm), con 0 o 1 septa que nacen en cabezas falsas de monofialides cortas. No se observaron clamidosporas. En el caso de *F. falciforme*, se observaron macroconidias (27.3 a 46.3 x 2.1 a 7.1 μm), las cuales fueron falciformes, hialinas, de 2 a 5 septas, con células en forma de pie bien desarrolladas y células apicales roma, y microconidias (8.2 a 12.3 x 1.6 a 4.8 μm) hialinas, ovals o reniformes y falsas cabezas. No se observaron clamidosporas. Para *F. brachygibbosum*, se observaron macroconidias (35.2 a 40.2 x 5.2 a 8.3 μm) y clamidosporas terminals o intercaladas, solas o en cadena, usualmente unicelulares y globosas. No se observaron microconidias.

Prueba de patogenicidad

En la patogenicidad de plantas de cebolla, el aislamiento con mayor índice de severidad de la enfermedad fue la cepa Fb20, con un valor de 75 %, seguido por el aislamiento Fo24 con 58.33 %, mostrando un valor similar con el aislamiento Ff05. El aislamiento que mostró el menor índice de severidad de la enfermedad, con un valor de 33.33 %, fue la cepa Fo11,

Fo28, Fo08, Fo09, Fo26, superiores al tratamiento testigo con un valor de 0.0 %. Resultados similares se obtuvieron en el rango de patogenicidad (Cuadro 1).

Cuadro 1. Resultados del ensayo de patogenicidad en plantas de cebolla a los 60 días después de la inoculación con los 18 aislamientos monospóricos.

Cepa^a	DSI^b (%)	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos^c	Rango^d
Fb20	75.00	3	163.500	54.500 a	3-4
Ff05	58.33	3	129.500	43.167 ab	2-3
Fo24	58.33	3	129.500	43.167 ab	2-3
Fo12	50.00	3	105.500	35.167 ab	1-3
Fo02	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo03	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo10	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo22	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo23	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo25	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo29	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo30	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo33	41.67	3	88.500	29.500 ab	1-2
Fo08	33.33	3	64.500	21.500 ab	1-2
Fo09	33.33	3	64.500	21.500 ab	1-2
Fo11	33.33	3	64.500	21.500 ab	1-2
Fo26	33.33	3	64.500	21.500 ab	1-2
Fo28	33.33	3	64.500	21.500 ab	1-2
Control	0	3	6.000	2.000 b	0-0

*Letras iguales no muestran diferencia significativa

^a Aislamientos monospóricos sometidos a la prueba de patogenicidad en plantas

^b Índice de severidad de la enfermedad expresado en porcentaje

^c Comparación de medias por Dunn con $p \leq 0.05$

^d Rango de patogenicidad de cada uno de los aislamientos monospóricos (Rango máximo 4 y mínimo 0).

Los primeros síntomas observados fueron a los 15 días de inocular la planta de cebolla. Al finalizar los 60 días, las plantas con síntomas, fueron cortadas longitudinalmente, mostrando una necrosis en la parte basal del bulbo, mostrando una disminución en las raíces, comparada con las plantas testigo; así mismo, el hongo fue reaislado cuidadosamente de estas plantas inoculadas, completando los postulados de Koch en ambos ensayos. Los síntomas fueron observados sobre plantas no inoculadas a los 60 días.

En la comparación de medias de la patogenicidad en plantas de cebolla, el aislamiento Fb20 mostró diferencia significativa con respecto a todos los demás, el resto de los aislamientos no mostraron diferencia significativa entre ellos, sin embargo, mostraron diferencia significativa comparado con el testigo.

Secuenciación e Identificación molecular

Los aislamientos Fb20, Ff05, Fo24 y Fo12 fueron seleccionados para ser purificados y secuenciados, con base al mayor índice de severidad de la enfermedad (DSI) mostrado en la prueba de patogenicidad sobre plantas de cebolla (Cuadro 2).

Los análisis genéticos de PCR de todos los aislamientos de *F. oxysporum* amplificaron a 698 bp con un marcador molecular de 100 bp, utilizando el gen TEF-1 α . La base de datos del programa BLAST, indicó que los resultados de la secuencia tienen un 99 % de similitud con el correspondiente a *Fusarium oxysporum*. Sin embargo, cabe señalar que la secuenciación, identificó a *Fusarium brachygibbosum* con un 97 % de similitud, con respecto al BLAST, el cual amplificó a 700 bp. *Fusarium falciforme* una similitud de 100 % con respecto al BLAST, el cual amplificó a 700 bp. Con el gen ITS, los aislamientos amplificaron en 500 a 620 bp para todos los aislamientos de *F. oxysporum* y 99 % de similitud con respecto al BLAST. *F. falciforme* amplificó a 600 bp y con un 99 % de similitud con respecto al BLAST, y *F. brachygibbosum* con 100 % de similitud y amplificó a 550 bp.

Cuadro 2. Secuencias de aislamientos depositadas en el GenBank

Especies	Codigo de cepa	Origen	GenBank accesión EF-1α	GenBank accesión ITS-1
<i>F. brachygibbosum</i>	Fb20	Mexico, Sinaloa, SL	MHO41261	MH038176
<i>F. falciforme</i>	Ff05	Mexico, Sinaloa, A	MH041264	MH038177
<i>F. oxysporum</i>	Fo24	Mexico, Sinaloa, A	MH041263	MH038179
<i>F. oxysporum</i>	Fo12	Mexico, Sinaloa, M	MH041262	MH038178

DISCUSIÓN

Pruebas de patogenicidad

Todos los aislamientos empezaron a presentar síntomas a los 15 días de inoculación, tales como, coloración café en las puntas de las hojas y necrosis en parte basal del bulbo a los 30 días de inoculación, así como también, pausa en el crecimiento de la planta, igual a los síntomas reportados por Velázquez y Medina (2004). A pesar, de que las plantas no murieron en su totalidad, todas presentaron pausa en su crecimiento y bulbo sin engrosamiento, mostrando además un alto rango de patogenicidad, lo que puede deberse a la selección de los aislamientos del hongo, y/o que fueron infectados directamente de la planta de cebolla infectada. Los índices de severidad concuerdan con lo reportado por Schwatz y Mohan (1995) quienes aseguran que los daños causados por la enfermedad de la pudrición basal puede causar pérdidas arriba del 40 % en los rendimientos, e incluso McDonald *et al.* (2007), confirman que dicha enfermedad, ocasiona pérdidas arriba del 50 % en el campo, adicionando además, pérdidas en almacenamientos, esto es debido, al progreso de la enfermedad e infecciones mezcladas con otros patógenos. La mayoría de aislamientos colectados fueron identificados como *F. oxysporum* causantes de la pudrición basal en el cultivo de cebolla, en la zona centro norte de Culiacán, tomando en cuenta la gran incidencia del patógeno; lo que puede ser debido a las practicas agronómicas adoptadas por los agricultores, quienes en su mayoría, utilizan semillas sin ser certificadas, e incluso a la comercialización de pelotilla (bulbos en latencia) originada de semilla que ellos mismos producen, sin tener los cuidados necesarios; esto concuerda con lo reportado por Cramer (1967), quienes afirman que las practicas agronómicas adoptadas por los agricultores influyen en la incidencia y severidad de parásitos y enfermedades en los cultivos; Chaube y Pundhir (2005), también demuestra, que la utilización de semillas sin certificar contribuye a la propagación de enfermedades fúngicas, lo que coincide con este estudio, ya que se tuvo la presencia de *F. solani* y *F. brachybbosum*, quienes además, presentaron mayor patogenicidad, esto puede ser debido, a la variabilidad genética presente en las especies de *Fusarium*, y el hospedante (Geiser *et al.* 2004; Leslie & Summerell 2006). Aunado a esto, el uso indiscriminado de pesticidas para el control de la enfermedad, provoca una alta incidencia y severidad, repercutiendo al desarrollo de resistencias dirigidas a plagas y patógenos (Ahmed 1995). La frecuencia de aplicaciones de plaguicidas, juega un rol en el desarrollo de resistencias de vectores infecciosos hacia los cultivos, y que además, repercute en la eliminación de organismos benéficos, que podrían ayudar, a cuidar la economía de los productores. Por otro lado, la compatibilidad vegetativa, podría deberse a la similitud descrita por Leslie y Summerell (2006), entre *F. solani* y *F. oxysporum*, quienes afirman, la presencia de un gen (pisatin demethylase) involucrado en la patogenicidad, basado en la hibridación, que está contenido en *F. solani* como en *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, además, la presencia de la encima cyanide hydratase presente en ambos patógenos. De acuerdo con Taylor *et al.* (2013), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* secreta un efecto de proteína dentro del xilema (SIX), y que diferentes autores demuestran que han sido identificadas en otras formas especiales, incluyendo *F. oxysporum* f. sp. *cepae*, causante de la pudrición basal en cebolla; por lo que estos y diferentes estudios, muestran la gran variabilidad genética y patogénica de las diferentes especies de *Fusarium*, haciendo necesario, hacer inversiones a la investigación científica para una explicación clara, del porque las diferentes formas especiales pudieran estar presentes en distintos hospedantes.

En lo que respecta a *Fusarium brachygibbosum*, este patógeno, ha sido reportado, únicamente como primeros reportes, en adelfa en Irán, podredumbre del tallo de maíz en China, marchitez en sandía en Sonora, México (Rentería-Martínez *et al.* 2015).

La comparación de medias de los índices de severidad de la enfermedad, otorgados en la prueba de patogenicidad, muestra diferencia significativa entre los aislamientos monospóricos con respecto al tratamiento testigo sin inocular, esto podría deberse, a lo reportado por Buxton (1956) en *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, por aislamientos monospóricos de *F. oxysporum* causantes de la pudrición de la corona y raíz en tomate, señalando que la heterocariosis y/o heteroplasmosis en los ciclos parasexuales de hongos imperfectos, pueden causar variación en la patogenicidad.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio, se determinó que *F. oxysporum*, *F. brachygibbosum* y *F. falciforme* son el agente causal de la pudrición basal en el cultivo de cebolla en la zona centro-norte del Estado de Sinaloa.

LITERATURA CITADA

Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman J. G., Smith J. A., Struhl K. 2003. Current Protocols in Molecular Biology. EDITORIAL BOARD.

Buxton E. W. 1956. Heterokaryosis and parasexual recombination in pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Journal of General Microbiology. 15:133-139.

Cramer H. H. 1967. Plant protection and world crop production. Leverkusen: Farbenfabriken Bayer AG.

Chaube H. S., Pundhir V. S. 2005. Crop diseases and their management. New Delhi: Prentice-Hall of India Private Ltd.

Dissanayake M. L. M. C., Kashima R., Tanaka S., Ito S. 2009. Pathogenic variation and molecular characterization of *Fusarium* species isolated from wilted Welsh onion in Japan. J Gen Plant Pathol. 75: 37-45.

Fisher N. L., Burgess L. W., Toussoun T. A., Nelson P. E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology. 72:151-153.

Galanihe L. D., Priyantha M. G. D. L., Yapa D. R., Bandara H. M. S., Ranasinghe J. A. D. A. R. 2004. Insect pest and diseases incidences of exotic hybrid Chilli pepper varieties grown in the low Country dry zone of Sri Lanka. Annals of Sri Lanka. 6:99-106.

Geiser D. M., Jimenez-Gasco M. M., Kang S., Makalowska I., Veeraraghavan N., Ward T. J., Zhang N., Kuldau G. A., O'Donnell K. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: a DNA sequence database for identifying *Fusarium*. Eur J Plant Pathol. 110: 473-479.

Hansen H. N., SMITH R. E. 1932. The mechanism of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. Phytopathology, 22: 953 -964.

Leslie J. F., Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Ltd.

Lomas-Cano T., Boix-Ruiz A., Palmero-Llamas D., de Cara-Garcia M., Marin-Guirao J. I., Camacho-Ferre F., Tello-Marquina J. C. 2016. Etiological and epidemiological concerns about pepper root and lower stem rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-capsici* f. sp. *nova*. Phytoparasitica 44:283-293.

Marlatt M. L., Correll J. C., Kaufmann P., Cooper P. E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. Plant Dis. 80: 1336-1342.

McDonald V., Pond E., Crowley M., McKee B., Menge J. 2007. Selection for and evaluation of an avocado orchard soil microbially suppressive to *Phytophthora cinnamomi*. Plant and Soil. 299:17-28.

Moine L. M., Labbe C., Louis-Seize G., Seifert K. A., Belanger R. R. 2014. Identification and detection of *Fusarium striatum* as a new record of pathogen to greenhouse tomato in northeastern America. Plant Dis. 98: 292-298.

Ochoa Y. M., Cerna E., Gallegos G., Landeros J., Delgado J. C., Hernández S., Rodríguez R., Olalde V. 2012. Identificación de especies de *Fusarium* en semilla de ajo, en Aguascalientes, México. Rev MexMicol. 36: 27-31.

O'Donnell K. 2000. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. Mycologia 92:919-938.

Palmero D., Cara M., Nosir W., Gálvez L., Cruz A., Woodward S., González M. T., Tello J. C. 2012. *Fusarium proliferatum* isolated from garlic in Spain: Identification, toxigenic potential and pathogenicity on related *Allium* species. *Phytopathol Mediterr.* 51:207-18.

Pulido-Herrera A., Zavaleta-Mejía E., Cervantes-Díaz L., Grimaldo-Juárez O. 2011. Alternativas de control en la producción radical de cebolla para el Valle de la Trinidad, Baja California. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 3: 97-112.

Pulido-Herrera A., Zavaleta-Mejía E., Cervantes-Díaz L., Grimaldo-Juárez O., Avilés-Marín S. M. 2008. Incidencia, severidad e identificación del agente causal de la pudrición radical de la cebolla (*Allium cepa* L.) en el Valle de la Trinidad, Baja California, México. XI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, Baja California. 201-205.

Rentería-Martínez M. E., Meza-Moller A., Guerra-Camacho M. A., Romo-Tamayo F., Ochoa-Meza A., Moreno-Salazar S. F. 2015. First report of watermelon wilting caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sonora, México.

Schwartz H. F., Mohan K. 1995. Compendium of onion and garlic diseases. San Diego, California: Academic Press. p. 54

SIAP. 2016. Anuario de estadístico de cultivos. Fecha de consulta enero del 2018. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>.

Taylor A., Vagany V., Barbara D.J., Thomas B., Pink D. A. C., Jones J. E., Clarkson J. P. 2013. Identification of differential resistance to six *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* isolates in commercial onion cultivars through the development of a rapid seedling assay. *Plant Pathol.* 62, 103–111.

Velázquez R., Medina M. M. 2004. Características vegetativas y susceptibilidad de variedades de ajo (*Allium sativum* L.) infectadas por *Fusarium* spp. *Rev Mex Fitopatol.* 22: 435-8.

CONCENTRACIONES DE CADMIO (Cd), COBRE (Cu), PLOMO (Pb) Y ZINC (Zn) EN TEJIDOS DE LA JAIBA *Callinectes arcuatus* DE LOS SISTEMAS LAGUNARES SANTA MARÍA-LA REFORMA, ESTERO DE URÍAS Y HUIZACHE-CAIMANERO, SINALOA

Nancy Lorena Garzón Raygoza (1), Dra. Carmen Cristina Osuna Martínez (1), Dra. Magdalena Elizabeth Bergés Tiznado (2), Dra. Carolina Guadalupe Delgado Alvarez (2), Dra. Ofelia Escobar Sánchez (1), Dr. Martín Gabriel Frías Espericueta (1).

Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar. ¹UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA. nancy_facimar@uas.edu.mx; ² UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE SINALOA

I. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes ambientales importantes son aquellos que tienden a acumularse en los organismos, que son persistentes debido a su estabilidad química o escasa biodegradabilidad. Entre los innumerables grupos de contaminantes, los metales pesados (incluidos algunos metaloides) presentes en el medio ambiente han generado gran interés mundial, debido a su toxicidad y persistencia durante varias décadas, así como a su bioacumulación y biomagnificación en las cadenas tróficas (Rajeshkumar y Munuswamy, 2011).

Los metales pesados están presentes en el ambiente acuático, desde donde son transportados disueltos en forma iónica o unidos a compuestos de diversos residuos orgánicos e inorgánicos, asociados a partículas, retenidos en el sedimento o en los seres vivos, son componentes naturales de los ambientes acuáticos y pueden ejercer efectos benéficos o perjudiciales, dependiendo de su concentración. Algunos de estos elementos son esenciales para el desarrollo saludable de los sistemas biológicos, ya que cumplen funciones metabólicas importantes y son requeridos en bajas concentraciones; sin embargo, pueden provocar efectos negativos y tóxicos cuando están presentes en exceso (Luoma y Rainbow, 2011; Corrales, 2013).

Los metales pesados en los ambientes marino-costeros provienen de fuentes naturales y antropogénicas. De las fuentes naturales, las que causan mayor contaminación son el drenaje continental, la deposición atmosférica, y la erosión de los suelos (Cheung *et al.*, 2008; Jaramillo, 2009; Dobaradan *et al.*, 2010; Pan y Wang, 2011; Maceda-Veiga *et al.*, 2012). Las actividades humanas movilizan estos elementos, que influyen en los ciclos biogeoquímicos de los metales en los ambientes acuáticos y, en consecuencia, en la disponibilidad de estos metales para la biota (Rodrigues-Miranda *et al.*, 2007; Corrales, 2013). Entre las diversas fuentes antropogénicas que contienen y liberan metales pesados se encuentran:

- La agricultura y ganadería, como fertilizantes, pesticidas, fungicidas, y aguas residuales (Jaramillo, 2009).
- El sistema de desagüe por el uso de desechos domésticos, y desechos industriales (Lombardi *et al.*, 2010; Maceda-Veiga *et al.*, 2012)
- La extracción de metales en mineras, la combustión de carbón y derivados del petróleo (Jaramillo, 2009).

Las jaibas capturadas comercialmente en el Pacífico mexicano son del género

Callinectes, son crustáceos de la familia Portunidae, que habitan la zona litoral y los sistemas lagunares costeros durante su fase adulta (Castañeda-Fernández-de-Lara *et al.*, 2014).

Las jaibas del género *Callinectes* tienen una gran importancia comercial en México; son consideradas como un recurso que sostiene pesquerías artesanales y procesos industriales importantes en el ámbito nacional. Por su volumen y valor de la producción pesquera y acuícola, la jaiba se encuentra posicionada en el lugar nueve (CONAPESCA, 2017), la textura y el sabor de su carne hacen de este recurso un producto de exportación ya sea como jaiba blanda (los organismos recién mudados), o como carne de jaiba, ya sea a granel o enlatada. La pesquería de jaiba del país ha variado a lo largo de su historia, pero en los últimos lustros más de la mitad de la producción nacional se obtiene en el litoral del Pacífico, con respecto a la que se obtiene en el Golfo de México y Mar Caribe. En el Pacífico destaca la producción pesquera del Golfo de California aportada por los estados de Sonora y Sinaloa (Hernández y Arreola 2007), mientras que en la península de Baja California, la mayor producción se obtiene en su litoral Pacífico, comparado con el del golfo (González *et al.*, 1996). Las especies de este género se distribuyen a lo largo de las costas tropicales y templadas del este de los Estados Unidos, las costas oeste y este de América Central, occidente de África, islas del Pacífico Sur Atlántico Occidental. En nuestro país se les localiza en el Caribe, Golfo de México y Océano Pacífico (Williams, 1974). El género *Callinectes* presenta especies que habitan en esteros, bahías, lagunas costeras y desembocaduras de ríos, así como en el litoral rocoso y arenoso de las playas tanto continentales como insulares en profundidades de hasta 90 m (Ruiz, 1978; Williams, 1974). Su captura es tradicionalmente de tipo artesanal, mediante el empleo de artes de pesca muy sencillas, de bajo costo y fácil elaboración, tales como ganchos, arpón o fisga manual, aros y trampas. En las costas del Océano Pacífico mexicano, las principales especies explotadas de jaiba son *C. arcuatus* y *C. bellicosus* y, sin embargo, el número de trabajos sobre el grupo es muy pequeño (Escamillas *et al.*, 2013). Actualmente, se ha prestado gran interés sobre el contenido de metales en crustáceos decápodos, por ser componentes fundamentales de la comunidad bentónica litoral (Muñoz *et al.*, 2006) y por su explotación comercial para consumo humano (Barrento *et al.*, 2009); mismos que se encuentran dentro de las especies más abundantes en los sistemas costeros. Por lo tanto, mediante el presente estudio, se pretende analizar los contenidos de Cd, Cu, Pb y Zn en especímenes de jaibas *C. arcuatus* de tres sistemas lagunares de Sinaloa, Santa María-La Reforma, Estero de Urías y Huizache-Caimanero.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Por su importancia ecológica y económica, la jaiba *Callinectes arcuatus* es un recurso importante en los sistemas Lagunares Huizache Caimanero, Santa María-La Reforma y Estero de Urías. Por lo tanto, se requiere tener conocimiento de los niveles de metales pesados, como Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Plomo (Pb) y Zinc (Zn), que están presentes en sus tejidos. Por lo anterior, es importante realizar este tipo de análisis para poder dar respuesta a preguntas de investigación como las siguientes:

- ¿Cuáles son las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn en los tejidos blandos de los organismos?

- ¿Qué tejido registra las mayores concentraciones?
- ¿En cuál de los tres sistemas presenta mayor concentración de Cd, Cu, Pb y Zn en los tejidos de jaiba?
- ¿Existe el riesgo de intoxicación por Cd, Cu, Pb y Zn, por consumo de las jaibas *C. arcuatus* que se pescan en estos sistemas?

HIPÓTESIS

De acuerdo con sus hábitos alimenticios y bentónicos; las jaibas *C. arcuatus* de los sistemas lagunares Santa María-La Reforma, Estero de Urías y Huizache-Caimanero, Sinaloa, presentan concentraciones relativamente altas de los metales pesados Cd, Cu, Pb y Zn pero no superan los Límites Máximos Permisibles (LMP), establecidos para consumo humano. Los mayores niveles se bioacumulan por estos organismos en el hepatopáncreas, en comparación con el tejido muscular.

OBJETIVOS

General

- Analizar los niveles de Cd, Cu, Pb y Zn en tejidos de jaiba *C. arcuatus* de los sistemas lagunares Huizache-Caimanero, Santa María-La Reforma y Estero de Urías, Sinaloa.

Específicos

- Determinar las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn en músculo y hepatopáncreas de jaiba *C. arcuatus* de los sistemas lagunares Huizache-Caimanero, Santa María-La Reforma y Estero de Urías, Sinaloa.
- Comparar el contenido de Cd, Cu, Pb y Zn en músculo de estos organismos, con los LMP establecidos por las normas nacionales e internacionales.
- Comparar los niveles encontrados en cada uno de los sistemas.
- Determinar si existen diferencias significativas en las concentraciones de Cd, Cu, Pb, y Zn entre los tejidos de *C. arcuatus*.
- Determinar si hay variabilidad de concentraciones de metales dependiendo la estación del año.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

II.1. Recolección de organismos

Se recolectaron manualmente 30 ejemplares de jaibas *C. arcuatus* cada dos meses de cada uno de los sistemas lagunares Huizache-Caimanero, Santa María-La Reforma y Estero de Urías, Sinaloa, durante un año. Estos organismos fueron proporcionados por pescadores de cada una de las localidades para realizar este trabajo de investigación.

II.2. Trabajo de laboratorio

En el Laboratorio de Estudios Ambientales (Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa), se registraron las variables morfométricas de las jaibas: talla (ancho de caparazón, cm), peso total (g) y se determinó el sexo. Posteriormente, se disectaron y se extrajeron los tejidos de interés (músculo y hepatopáncreas) los cuales fueron pesados para tener el dato de peso fresco, se colocaron en recipientes y se

conservaron en congelación (-4 °C). El material de laboratorio se limpió de acuerdo al método de Moody y Lindstrom (1977). Este proceso se debe de realizar para asegurar que los recipientes utilizados durante el procedimiento estén libres de metales y los resultados no sean erróneos al momento de hacer las lecturas de las muestras.

II.3. Procesamiento de muestras de tejido.

Cada una de las muestras se liofilizó a una presión de 100×10^{-3} mBar y a una temperatura de -52 °C, durante 72 horas. Enseguida, las muestras se pulverizaron y homogeneizaron de forma manual en un mortero de ágata hasta su completa homogenización. Cada una de las muestras de tejido se pesó antes y después del proceso de liofilización en una balanza OHAUS de precisión ± 0.001 g, con el fin de obtener posteriormente el porcentaje de humedad y poder hacer la conversión de peso seco a peso fresco.

Se pesaron 0.25 g de los tejidos macerados, posteriormente, se agregaron 5 mL de ácido nítrico concentrado (HNO₃, grado metales traza) y se dejaron un día de pre-digestión. Posteriormente, se colocaron en una plancha de calentamiento (marca Barnstead) a 120 °C para su digestión durante tres horas. Esto se realizó por duplicado de las muestras de tejido de cada organismo. Por último, las muestras se depositaron en frascos de polietileno, fueron aforadas a 20 mL. con agua Milli-Q y, finalmente, almacenadas para su posterior análisis.

II.4. Análisis de las muestras por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

Una vez que las muestras pasaron por el proceso de digestión, se llevarán al Laboratorio de Geoquímica y Contaminación Costera, en la Unidad Académica Mazatlán del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), para ser analizadas por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) para cuantificar sus concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn. Para ello, se recolectará información en diversas fuentes de información sobre la jaiba café (*Callinectes arcuatus*) y sus concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn. Para asegurar la calidad y confiabilidad de los análisis, se usarán blancos y se utilizará el material certificado DOLT-4 (Hígado de pescado como material de referencia para metales traza).

Para el análisis de Cd y Pb se utilizará un tubo de grafito como medio de atomización. La muestra es colocada en este tubo y por calentamiento por el paso de una corriente eléctrica por el horno, la temperatura aumenta para realizar el proceso en un tiempo mayor que el de llama.

El Cu y Zn se analizarán con detección por llama, en este caso la muestra aspirada es convertida en pequeñas gotas que tienen un tamaño lo suficientemente pequeño para llegar al quemador, donde el solvente es evaporado y el sólido resultante se funde y vaporiza para formar moléculas volátiles y dissociarse en átomos.

II.5. Análisis estadístico de los resultados.

Para el análisis estadístico, se obtendrán las medias aritméticas y sus desviaciones estándar, se realizarán pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors y Shapiro-Wilk W) y de homocedasticidad (Levene). Se utilizarán pruebas paramétricas o no paramétricas, en función de que se cumplan los supuestos de normalidad y

homocedasticidad. Para efectuar las comparaciones de cada uno de los elementos entre los tejidos de estudio se utilizarán análisis de varianza (Zar, 1999).

LITERATURA CITADA

- Barrento, S.A., Marqués, B. Teixeira, M. Carvalho., P. Vaz-Pires, P. 2009. Accumulation of elements (S, As, Br, Sr, Cd, Hg, Pb) in two populations of *Cancer pagurus*: ecological implications to human consumption. *Food. Chem. Toxicol.*, 47(1): 150-156.
- Castañeda-Fernández-de-Lara, V., Cisneros-Mata, M.Á., Ramírez-Félix, E., García-Borbón, J.A. Labastida-Che, A., Gómez-Rojo, C., y Madrid-Vera, J. 2014. Pesca de jaiba en el litoral del Pacífico Mexicano. Instituto Nacional de la Pesca, México, 79 p.
- Cheung, K.C., Leung, H.M., Wong, M.H. 2008. Metal concentrations of common freshwater and marine fish from the Pearl River Delta, south China. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 54: 705-715.
- CONAPESCA (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca). 2017. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca (2017). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).
- Corrales, D. 2013. Estudio del contenido de metales pesados en dos especies de peces de la zona costera de Montevideo Uruguay. Tesina de Licenciatura. Universidad de la República de Uruguay. Uruguay. 84 p.
- Dobaradan, S., Naddafi, K., Nazmara, S., Ghaedi, H. 2010. Heavy metals (Cd, Cu, Ni and Pb) content in two fish species of Persian Gulf in Bushehr Port, Iran. *Afr. J. Biotechnol.*, 9: 6191-6193.
- Escamilla, R., De La Cruz, G., Villalejo, M., Diarte, G. 2013. Fecundidad de *Callinectes arcuatus* (Ordway, 1863) y *C. bellicosus* (Stimpson, 1859) (Decapoda: Brachyura: Portunidae) en la Ensenada de la Paz, Golfo de California, México. *Universidad y ciencia* 29(1)
- Hernández, L., Arreola-Lizárraga J.A. 2007. Estructura de tallas y crecimiento de los cangrejos *Callinectes arcuatus* y *C. bellicosus* (Decapoda: Portunidae) en la laguna costera Las Guácimas, México. *Revista de Biología Tropical* 55(1): 225-233.
- Jaramillo, A.M. 2009. Estudio de la biología trófica de cinco especies de peces bentónicos de la costa de Cullera. Relaciones con la acumulación de metales pesados. Tesis de Doctorado, Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente.
- Lombardi, P.E., Peri, S.I., Verrengia-Guerrero, N.R. 2010. Trace metal levels in *Prochilodus lineatus* collected from the La Plata River, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160: 47-59.
- Luoma, S.N., Rainbow, P.S. 2011. Metal Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Management. Camb. Unive. Press, Cambridge, UK. ISBN: 978-0-521- 27901-7 pp. 573.
- Maceda-Veiga, A., Monroy, M., de Sostoa, A. 2012. Metal bioaccumulation in the Mediterranean barbel (*Barbus meridionalis*) in a mediterranean river receiving effluents from urban and industrial wastewater treatment plants. *Ecotoxicology and*

- Environmental Safety, 76: 93-101.
- Moody, J. R., Lindstrom, R. N. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. *Anal. Chem.*, 49: 2264-2267
- Muñoz, C., Pardo, L., Henríquez, L., Palma, A. 2006. Variaciones temporales en la composición y abundancia de cuatro especies de *Cáncer* (Decapoda: *Brachyura*: Cancridae) capturadas con trampas en bahía San Vicente, Concepción (Chile central). *Investigaciones Marinas*, 34(2): 9-21.
- Pan, K., Wang, W. 2011. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Sci. Total Environ.*, 421-422: 3-16.
- Rajeshkumar, S. Munuswamy, N. 2011. Impact of metal on histopathology and expression of HSP 70 in different tissues of milk fish (*Chanos chanos*) of Kaattuppalli Island, South East Coast, India. *Chemosphere* 83: 415-421.
- Rodríguez, A., González, J. F., Suarez, R., 2007. Bioacumulación por Metales Pesados en el Capitán de la Sabana (*Eremophilus mutisii*), habitante de la cuenca alta del río Bogotá. *Revista electrónica de ingeniería en producción acuícola* 2(2), ISSN 1909-8138.
- Ruiz, M.F. 1978. Recursos Pesqueros de las Costas de México. Editorial Limusa, México. 130 p.
- Williams, A.B. 1974. The swimming crabs of the genus *Callinectes*. *Fisheries Bulletin* 72(3): 685-798.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*, 4a. ed. Prendice-Hall. Englewood Cliffs. 718 p.

RELACIÓN ENTRE LA NUTRICIÓN EN TOMATE (*Solanum lycopersicum*) Y LA SEVERIDAD DE LA FUSARIOSIS VASCULAR

Daniel Mendoza Medrano¹, Carlos Alfonso López Orona², Tomás Díaz Valdés², Teresa De Jesús Velázquez Alcaraz², Guadalupe Alfonso López Urquidez², Ángel Roberto Martínez Campos³.

¹Estudiante del Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa (daniel.mendoza2508@gmail.com), ²Profesor e Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. ³Profesor e Investigador de Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales de la Universidad Autónoma del Estado de México.

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluaron distintas dosis de fertilización, las cuales están basadas en Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K) y Calcio (Ca), en cuatro variedades de tomate saladette, para observar la severidad del daño causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. (FOL), las plantas de tomate fueron inoculadas con las 3 razas de FOL y se obtuvieron bajo condiciones controladas, estableciendo un diseño completamente al azar con seis repeticiones estableciendo un arreglo factorial. La severidad de la enfermedad fue evaluada a los 25 días después de la inoculación utilizando los niveles del (0-4) metodología establecida por Marlatt (1998). Para las variables respuesta de severidad de la enfermedad mediante la prueba de kruskal wallis, los tratamientos 93 (207mg L-1 Ca, R3, BB), 95 (207mg L-1 Ca, R3, W) y el tratamiento 81 (0 Ca, R3, BB) fueron los que presentaron menor severidad de la enfermedad.

Palabras clave: severidad de fusarium, nutrición, tomate.

ABSTRACT

In the present work the fertilization doses were evaluated, which are available in Nitrogen (N), Phosphorus (P), Potassium (K) and Calcium (Ca), in four varieties of tomato saladette, to observe the severity of the damage caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.(FOL), the tomato plants were inoculated with the 3 races of FOL and were obtained under controlled conditions, establishing a completely random design with six repetitions establishing a factorial arrangement. The severity of the disease was evaluated 25 days after the inoculation using the levels of the (0-4) methodology established by Marlatt (1998). For response variable of disease severity by testing of kruskal wallis, the treatments 93 (207mg L-1 Ca, R3, BB), 95 (207mg L-1 Ca, R3, W) y 81 (0 Ca, R3, BB), were those that presented lower severity of the disease.

Key word: fusarium Severity, nutrition, tomato.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cultivo de tomate ha adquirido importancia económica y alimenticia en todo el mundo, ya que es una de las hortalizas más importante en numerosos países, dentro de las principales frutas y hortalizas que se consumen en EE.UU, el tomate ocupa el lugar 16 en cuanto a concentración relativa de un grupo de 10 vitaminas y minerales (Stevens, 1974).

El tomate es originario de México, Perú y Ecuador, donde se encuentran diversas variedades silvestres. A la llegada de los españoles el tomate formaba parte de los huertos de hortalizas de Mesoamérica. Actualmente, el

tomate es la hortaliza más popular y aceptada en la cultura gastronómica de la mayoría de los países (Montes y Aguirre, 1992). A nivel mundial se rebasan los 4 millones de hectáreas cosechadas de tomate anualmente, con una producción promedio que fluctúa alrededor de los 177 millones de toneladas por año. Los principales países productores en el mundo son China, EE. UU., India, Italia, Egipto, España, Holanda, México y Francia. China es el principal productor de tomate en el mundo, seguido por los Estados Unidos y la India. México ocupa la novena posición, por debajo de Italia (FAO, 2019). Sin embargo, la producción de esta hortaliza es amenazada por la enfermedad de la fusariosis vascular, la cual es una enfermedad criptogámica ocasionada por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (FOL), siendo el factor más importante que limita el éxito en la producción de esta hortaliza, al grado de ocasionar pérdidas del 60% y en algunas temporadas pérdidas totales. (Tello y Lacasa, 1988). Tello y Lacasa (1988), mencionan que la sintomatología provocada por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* inicialmente se observa en el sistema radicular de las plantas, a las que ocasiona una severa pudrición y avanza por los haces vasculares del tallo hacia la parte aérea, obscureciéndolos y obstruyendo el paso de agua y nutrientes. El sistema vascular de la raíz, tallo y pecíolos se torna café rojizo, ocasionando el taponamiento del mismo, lo cual produce un leve amarillamiento y envejecimiento prematuro de las hojas inferiores. A pesar de lo anterior, no existe conciencia que la nutrición mineral tiene un papel importante en el control de enfermedades en las plantas. El uso de químicos aumenta el impacto negativo en el medio ambiente y seguridad alimentaria. La deficiencia de todos los nutrientes esenciales afecta a la salud de las plantas y la susceptibilidad a las enfermedades. Las plantas con estrés nutricional, son más propensas a las enfermedades, mientras que las plantas con nutrición adecuada son tolerantes a las enfermedades (Sepúlveda, 2006). La investigación científica de carácter básico ha proporcionado explicaciones específicas acerca de los mecanismos por los cuales la nutrición tiene una marcada influencia sobre la incidencia y severidad de las enfermedades de las plantas cultivadas. Por otra parte, de la investigación aplicada se han obtenido resultados que han dado bases para incorporar el manejo nutricional en esquemas comerciales de control integrado de los problemas sanitarios de varios cultivos (Munévar, 2004). También se señala que los desbalances entre N y K, entre Ca y B y entre los elementos Ca, Mg y K propician el desarrollo de la enfermedad y han mostrado cómo el manejo integral de la nutrición debe formar parte de las estrategias de manejo para el control de una enfermedad (Munévar, 2004).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Sinaloa, el control de las enfermedades radiculares en el cultivo de tomate, se han realizado mediante la utilización de plaguicidas, lo cual ha impactado negativamente al medio ambiente, han impactado en la agricultura, degradando la biodiversidad de (microorganismos) de los agro ecosistemas. Las enfermedades han llegado a reducir más del 60% la producción de hortalizas. El manejo N, P, K, Ca no se tiene contemplado como un factor que ayude para el control de las enfermedades.

HIPÓTESIS

La concentración de los nutrientes, así como la etapa fenológica de la planta de tomate en la que se suministran los nutrientes tiene una relación en la concentración de aminoácidos, así

como la severidad de la enfermedad de la fusariosis vascular en tomate ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración y tipos de aminoácidos bajo diferentes concentraciones nutritivas con la inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar la incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate bajo una solución nutritiva al aumentar Nitrógeno, Fosforo, Potasio, Calcio.

Identificar que elemento esencial influye en la reducción de la incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate. Determinar la concentración de Nitrógeno, Fosforo, Potasio y Calcio en las plantas de tomate. Cuantificar la cantidad y tipos de aminoácidos que se encuentran mediante la expresión génica en la parte de la planta de tomate donde se presente el daño de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en el valle de Culiacán, Sinaloa, México, en el kilómetro 17.5 de la maxi pista Culiacán-Mazatlán, que se encuentra con la localización geográfica de 24°36'58" de latitud norte y 107°25'48" de longitud oeste, a una altura de 19 msnm (García, 1988). Se tomaron muestras de plantas con los síntomas de FOL del tejido, se extrajo el patógeno y se utilizó el método que utilizaron Rodríguez y Montilla (2002). La extracción de ADN de cultivos monospóricos de FOL se realizó mediante el método del CTAB (Doyle, 1987). La siembra de la semilla de las cuatro variedades de tomate indeterminado se hizo en sustratos de turba y vermiculita fina, en charolas de 200 cavidades con medidas de 3.5cm² de perímetro x 4 cm de profundidad se depositó una semilla por cavidad. Se utilizaron las variedades Bony best (BB) susceptible a las tres razas de FOL, Manapal (M) resistente a la raza 1 de FOL, Walter (W) resistente a la raza 1 y 2 de FOL y FLA resistente a las tres razas de FOL. La solución nutritiva (SN) que se utilizó fue basada a las concentraciones de la solución universal de (Steiner, 1966), para estos elementos se modificó 0 ppm N y 193 ppm N, 0 ppm P y 37 ppm P, 0 ppm K y 314 ppm K, 0 ppm Ca y 207 ppm Ca, se aumentó su concentración en un 15% y se redujo a cero en esos cuatro elementos. De acuerdo a Duffy y Défago (1999), Posterior a la siembra, todas las soluciones nutritivas se inoculan con FOL con una cantidad de $\approx 10^5$ discos de micro conidios por fragmento de micelio por ml de solución nutritiva. Para el análisis foliar de N total se realizó mediante el método de destilación utilizando un micro kjeldahl, para cuantificar el P se utilizó el método del molibdato-vanadato utilizando el espectrofotómetro, para la extracción de Ca, K se realizó por el método del flamómetro para conocer su concentración (Faithfull, 2005). La severidad de la enfermedad será utilizada de acuerdo a los niveles establecidos del (0-4) donde, 0= 0%; 1=necrosis ligera (1-33%); 2=necrosis moderada y decoloración (34-66%); 3= Necrosis extrema y decoloración (67-100%); 4= Planta muerta (Marlatt,1998).Se estableció un diseño completamente al azar con

arreglo factorial con seis repeticiones. Para las variables respuesta de severidad de la enfermedad los datos fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de kruskal whallis para realización del dendrogramas.

Cuadro 1.- Niveles de los factores y los tratamientos.

Factores y niveles			
Trat	Fert.	Raza	Var.
1	0N	R1	BB
2	0N	R1	M
3	0N	R1	W
4	0N	R1	FLA
5	0N	R2	BB
6	0N	R2	M
7	0N	R2	W
8	0N	R2	FLA
9	0N	R3	BB
10	0N	R3	M
11	0N	R3	W
12	0N	R3	FLA
13	15% N	R1	BB
14	15% N	R1	M
15	15% N	R1	W
16	15% N	R1	FLA
17	15% N	R2	BB
18	15% N	R2	M
19	15% N	R2	W
20	15% N	R2	FLA
21	15% N	R3	BB

22	15% N	R3	M
23	15% N	R3	W
24	15% N	R3	FLA
25	0P	R1	BB
26	0P	R1	M
27	0P	R1	W
28	0P	R1	FLA
29	0P	R2	BB
30	0P	R2	M
31	0P	R2	W
32	0P	R2	FLA
33	0P	R3	BB
34	0P	R3	M
35	0P	R3	W
36	0P	R3	FLA
37	15% P	R1	BB
38	15% P	R1	M
39	15% P	R1	W
40	15% P	R1	FLA
41	15% P	R2	BB
42	15% P	R2	M
43	15% P	R2	W
44	15% P	R2	FLA
45	15% P	R3	BB
46	15% P	R3	M

47	15% P	R3	W
48	15% P	R3	FLA
49	OK	R1	BB
50	OK	R1	M
51	OK	R1	W
52	OK	R1	FLA
53	OK	R2	BB
54	OK	R2	M
55	OK	R2	W
56	OK	R2	FLA
57	OK	R3	BB
58	OK	R3	M
59	OK	R3	W
60	OK	R3	FLA
61	15% K	R1	BB
62	15% K	R1	M
63	15% K	R1	W
64	15% K	R1	FLA
65	15% K	R2	BB
66	15% K	R2	M
67	15% K	R2	W
68	15% K	R2	FLA
69	15% K	R3	BB
70	15% K	R3	M

71	15 % K	R3	W
72	15 % K	R3	FLA
73	0Ca	R1	BB
74	0Ca	R1	M
75	0Ca	R1	W
76	0Ca	R1	FLA
77	0Ca	R2	BB
78	0Ca	R2	M
79	0Ca	R2	W
80	0Ca	R2	FLA
81	0Ca	R3	BB
82	0Ca	R3	M
83	0Ca	R3	W
84	0Ca	R3	FLA
85	15% Ca	R1	BB
86	15% Ca	R1	M
87	15% Ca	R1	W
88	15% Ca	R1	FLA
89	15% Ca	R2	BB
90	15% Ca	R2	M
91	15% Ca	R2	W
92	15% Ca	R2	FLA
93	15% Ca	R3	BB
94	15% Ca	R3	M
95	15% Ca	R3	W
96	15% Ca	R3	FLA

Trat. Tratamiento, Fert.
Fertilización, var. Variedad

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Severidad de la enfermedad

Se evaluaron cuatro elementos minerales, las distintas razas de FOL, para conocer su efecto en la severidad de FOL en cuatro variedades de tomate saladette, en base a los niveles de daño de (0-4) establecido por Marlatt (1998), los fertilizantes bases son, Nitrato de potasio KNO_3 , Nitrato de calcio $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, fosfato mono potásico KH_2PO_4 , sulfato de potasio K_2SO_4 , cloruro de calcio $CaCl_2$ y cloruro de potasio KCl . La severidad de la fusariosis vascular causada por FOL se presentó con menor severidad en los tratamientos 93, 95 y 81 como se muestra en la figura 1.

Los tratamientos 93 y 95 los cuales se componen por el aumento de calcio al 15%, la R3 y la variedad BB, calcio al 15%, la R3 y la variedad W respectivamente, presentaron una disminución de la severidad de la enfermedad. Woltz *et al.* (1992), encontraron que al incrementar el calcio, la enfermedad de FOL se redujo, ya que se encuentra un adecuado contenido del calcio en el tejido de la planta de tomate el cual reduce las enzimas que degradan las paredes celulares producidas por FOL. Según Lawrence en (2007), comentó que la aplicación nitrato de calcio reduce la incidencia de la enfermedad llamada pudrición sureña causada por *sclerotium rolfsii* en el cultivo de zanahoria.

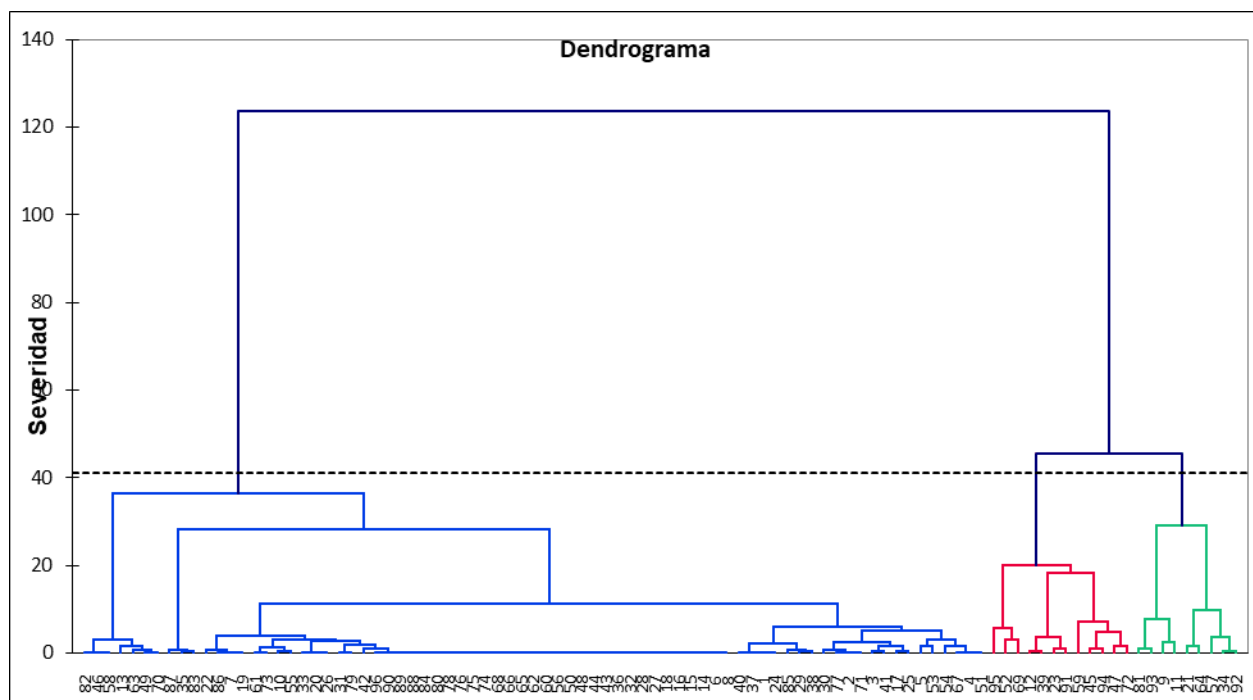


Figura 1.- Dendrograma basado en la severidad de la enfermedad en las plantas de tomate.

CONCLUSIONES

Los tratamientos 93 y 95 los cuales se compone de 207 mg L⁻¹ Ca, la raza 3 de FOL y la variedad bony best, y 207 mg L⁻¹ Ca, la raza 3 de FOL y la variedad Walter respectivamente es conveniente aplicar dicha dosis de calcio para que ayude a reducir la severidad de la enfermedad ocasionada por FOL.

LITERATURA CITADA

Doyle J. J., Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19: 11–15.

Duffy B. K., Défago G. 1999. Macro- and Microelement Fertilizers Influence the Severity of Fusarium Crown and Root Rot of Tomato in a Soilless Production System. Suiza. *Revista Hortscience* 34 (002): 287–29.

Faithfull, N. T. 2005. Métodos de análisis químico agrícola. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 167p.

García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. UNAM, México. 217p.

FAO. 2019. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/faostat/es/#data> (Consulta, Enero 2019).

Lawrence E. 2007. Mineral nutrition and plant disease. American Phytopathological Society. Datnoff, Minnesota, U.S.A. pp 55-105.

Marlatt M., Correll J. C. 1998. The occurrence of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* in Arkansas. *Phytopathology* 83: 1345.

Montes S., Aguirre J. R. 1992. Tomate de cáscara (*Physalis philadelphica*). Cultivos marginados, Otra perspectiva de 1492. FAO, Roma: 115-120.

Munévar M. F. 2004. Relación entre la nutrición y las enfermedades de las plantas. Palmas, Colombia. 22 (002):172-178.

Rodríguez D.A., Montilla J.O. 2002. Disminución de la marchitez causada por Fusarium en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. Manejo Integrado de plagas (Costa Rica). 63.46-47.

Sepúlveda C. G. 2006. Enfermedades de las plantas y Nutrición mineral. Proyecto INNOVA CORFO 08CT11IUD-22. México.

Steiner, A. A. 1966. The influence of the chemical composition of a nutrient solution on the production of tomato plant. *Plant and soil*. 454-466.

Stevens M.A. 1974. Varietal influence on nutrition value. White, P.L. (Eds.). *Nutritional qualities of fresh fruits and vegetables*. New York: 87-88.

Tello J. C., Lacasa A. 1988. La podredumbre del cuello y de las raíces", causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, nueva enfermedad en los cultivos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) españoles. *Bol. San. Veg. Plagas*. 14 (002):307-312

Velasco V. V. 1999. Papel de la nutrición mineral en la tolerancia a las enfermedades de las plantas. Oaxaca, México. *Revista Terra*. 17 (003).194-200.

Woltz S.S., Jones J. P., Scott J.W. 1992. Sodium chloride, nitrogen source, and lime influence Fusarium crown rot severity in tomato. *HortScience* 27:1087–1088.

Woltz S.S., Jones J. P., Scott J.W. 1992. Sodium chloride, nitrogen source, and lime influence Fusarium crown rot severity in tomato. *HortScience* 27:1087–1088.

FLUJOS DE NUTRIENTES Y METABOLISMO NETO ENTRE UNA LAGUNA COSTERA PRÍSTINA Y UNA RECEPTORA DE EFLUENTES CAMARONÍCOLAS

Julio Medina-Galván¹, Carmen Cristina Osuna Martínez², José Alfredo Arreola-Lizárraga³, Rafael Solís-Ibarra², Ramón Héctor Barraza-Guardado⁴, Martín Gabriel Frías-Espericueta²

¹Programa de Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar, UAS. jmedinag.facimar@uas.edu.mx

²Facultad de Ciencias del Mar, UAS

³Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

⁴Departamento DICTUS, Universidad de Sonora

Resumen

Las estimaciones de los flujos de nutrientes y el metabolismo neto del ecosistema son claves para conocer el funcionamiento biogeoquímico, entender procesos ecológicos y establecer comparaciones entre distintos cuerpos de agua costeros. El objetivo de este estudio fue estimar los flujos de nutrientes y el metabolismo neto de lagunas costeras, una sin aportes de aguas residuales (El Soldado) y otra receptora de efluentes camaronícolas (El Rancho) en el Golfo de California. Se realizaron muestreos de parámetros del agua en primavera, verano, otoño e invierno (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, nitritos, nitratos, amonio y ortofosfato) en sitios ubicados en la laguna y el mar adyacente. Los flujos de nutrientes y el metabolismo neto del ecosistema fueron estimados con el modelo biogeoquímico LOICZ. Los flujos de nutrientes mostraron que El Soldado exportó nitrógeno inorgánico disuelto (NID) al mar adyacente en primavera, y lo importó en verano, otoño e invierno; El Rancho exportó NID en primavera y verano, y lo importó en otoño e invierno. Ambas lagunas exportaron fósforo inorgánico disuelto en verano y lo importaron en primavera, otoño e invierno. En ambas lagunas, prevalecieron procesos de desnitrificación en verano y procesos de fijación de nitrógeno en primavera, otoño e invierno. El metabolismo neto del ecosistema fue heterótrofo en verano y fue autótrofo en primavera, otoño e invierno en ambas lagunas. El aporte de nutrientes por efluentes camaronícolas incrementó las tasas de transferencia de nutrientes, de desnitrificación y metabólicas en El Rancho con respecto a la laguna El Soldado.

Palabras claves: Procesos biogeoquímicos; flujos de nutrientes; metabolismo neto del ecosistema; lagunas costeras.

Abstract

The estimations of the nutrient fluxes and the net metabolism of the ecosystem are key to know the biogeochemical functioning, understand ecological processes and establish comparisons between different bodies of coastal water. The objective of this study was to estimate the fluxes of nutrients and the net metabolism of coastal lagoons, one without contributions of wastewater (El Soldado) and another recipient of shrimp effluents (El Rancho) in the Gulf of California. Samples were taken of water parameters in spring, summer, autumn and winter (temperature, salinity, dissolved oxygen, nitrites, nitrates, ammonium and orthophosphate) at sites located in the lagoon and the adjacent sea. The nutrient fluxes and the net metabolism of the ecosystem were estimated with the LOICZ biogeochemical model. The nutrient fluxes showed that El Soldado exported dissolved inorganic nitrogen (NID) to the adjacent sea in spring, and imported it in summer, autumn and winter; El Rancho exported NID in spring and summer, and imported it

in autumn and winter. Both lagoons export dissolved inorganic phosphorus in summer and imported it in spring, autumn and winter. In both lagoons, denitrification processes prevailed in summer and nitrogen fixation processes in spring, autumn and winter. The net metabolism of the ecosystem was heterotrophic in summer and was autotrophic in spring, autumn and winter in both lagoons. The contribution of nutrients from shrimp farming effluents increased the nutrient transfer, denitrification and metabolic rates in El Rancho with respect to the El Soldado lagoon.

Key words: Biogeochemical processes; nutrients fluxes; net ecosystem metabolism; coastal lagoons.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas costeros son de los más productivos, pero también los más vulnerables ante los impactos de los fenómenos naturales y de origen antropogénico (Lara-Lara *et al.*, 2008). Las lagunas costeras actúan como amortiguadores en la interfase tierra-mar, proporcionando valiosos servicios a los ecosistemas (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2016). Dentro de sus propios servicios están: 1) reciclaje de nutrientes, 2) descomposición de materia orgánica y 3) remoción de contaminantes (Barbier *et al.*, 2011). También destacan por su importancia económica, dado que sustentan actividades pesqueras, acuícolas, industrial y turística.

En este sentido, la intensificación del uso de la tierra está generando un deterioro en la calidad de las aguas costeras, debido a la descarga de nitrógeno y fosforo contenidos en los fertilizantes, en el alimento balanceado y aguas residuales sin tratamiento (Mackenzie *et al.*, 2011). Este enriquecimiento por nutrientes finalmente induce a la eutrofización o incremento en la tasa de producción de materia orgánica (Nixon, 1995).

Una herramienta útil para evaluar la capacidad que tienen los sistemas costeros para transformar, acumular y exportar materiales hacia el océano son los modelos de balances de masa como el que fue propuesto por el proyecto LOICZ (Land-Ocean Interactions in the Coastal Zone: www.loicz.org) y descrito por Gordon *et al.* (1996). Este modelo estima el balance de agua, el balance de sal y el balance de nutrientes de cuerpos de agua costeros y proporciona información acerca de su funcionamiento como fuente o sumidero de nutrientes, su metabolismo neto y sus procesos de desnitrificación y fijación de nitrógeno (Ramesh *et al.*, 2015).

En lagunas subtropicales del Golfo de California se han realizado algunos estudios en sistemas sin aportes de nutrientes por fuentes antropogénicas. Tal es el caso del estero La Luna, donde el proceso de fijación de nitrógeno dominó sobre la desnitrificación y el metabolismo neto del ecosistema fue autótrofo durante primavera (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2015a). Otro ejemplo se llevó a cabo en el estero El Siuti, donde el metabolismo neto, a diferencia de los dos anteriores, fue heterótrofo y dominó la fijación durante primavera (Medina-Galván *et al.*, 2018). Por otro lado, en sistemas receptores de nutrientes por fuentes antropogénicas como la laguna Lobos, las magnitudes en los flujos y el metabolismo se incrementaron durante invierno por el aporte de nutrientes de efluentes urbanos y agrícolas con respecto a verano (Valenzuela-Siu *et al.*, 2007).

JUSTIFICACIÓN

El conocimiento acerca del estado trófico, la dinámica de nutrientes y el metabolismo neto de las lagunas costeras del Golfo de California representa una línea de interés científico y socio-

económico por los bienes y servicios ambientales que ofrecen en la región.

Este conocimiento permitirá comparar las respuestas de estos sistemas al enriquecimiento de nutrientes en la región del Golfo de California, pero también con el comportamiento observado en lagunas tropicales y templadas. Adicionalmente, la información será útil para formular estrategias de aprovechamiento y manejo ambiental de lagunas costeras en el Golfo de California.

HIPÓTESIS

El análisis comparativo entre una laguna sin aportes de aguas residuales y una receptora de efluentes camaronícolas, mostrará que la laguna sin aportes funcionará como fuente de nutrientes con metabolismo heterótrofo durante primavera-verano, y como sumidero de nutrientes con metabolismo autótrofo durante otoño-invierno; mientras que la laguna receptora presentará mayores tasas de flujos de nutrientes y metabolismo neto, dependiendo de la magnitud de los aportes de los nutrientes recibidos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer los flujos de nutrientes y el metabolismo neto de lagunas costeras semiáridas subtropicales sujetas a diferentes fuentes y magnitudes de aportes de nutrientes por aguas residuales.

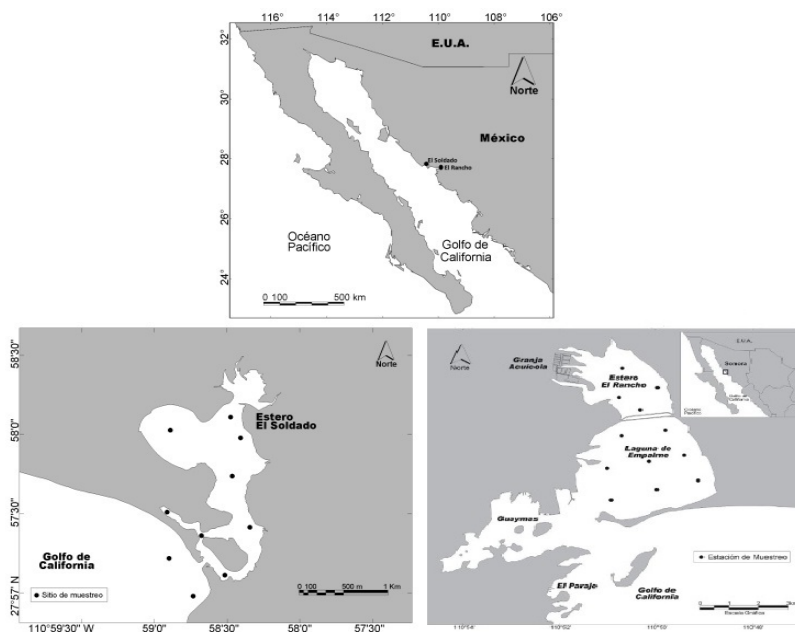
Objetivos particulares

Estimar y comparar los flujos de nutrientes (N y P inorgánicos) y el metabolismo neto de dos lagunas costeras geomorfológicamente similares, una sin aportes de aguas residuales y otra receptora de efluentes camaronícolas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio comprende las lagunas costeras El Soldado y El Rancho, localizadas en la costa central del Golfo de California (Fig. 1). La laguna El Soldado está clasificada como tipo IE: erosión diferencial cañón rocoso inundado (Lankford, 1977), tiene una superficie de 1.85 km² y profundidad promedio de 0.60 m. En esta laguna no existen asentamientos humanos y tampoco recibe descargas de aguas residuales. La laguna El Rancho está clasificada como tipo tipo IE: erosión diferencial cañón rocoso inundado (Lankford, 1977), tiene una superficie de 8 km² y profundidad promedio de 0.5 m. Este sistema es cuerpo receptor de aguas residuales de una granja camaronícola de 44 ha de superficie de cultivo, la cual opera desde abril hasta octubre y tiene un gasto de efluentes de 31,290 m³ día⁻¹ por ciclo de cultivo (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2016). La granja se abastece del agua del estero para el llenado y recambio de agua de los estanques y los efluentes camaronícolas son vertidos nuevamente a la laguna.

Trabajo de campo



En cada una de las lagunas costeras se estableció una red de sitios de muestreo que comprendió el cuerpo de agua y el mar adyacente. En cada sitio de muestreo se registraron la temperatura, salinidad y oxígeno disuelto con un equipo autónomo multisensor marca Hydrolab modelo Datasonde. En cada sitio se recolectó una muestra de agua sub-superficial con un recipiente de plástico con cierre hermético de 1 litro de capacidad para determinar la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos. Las muestras de agua se procesaron en el Laboratorio de Calidad del Agua del CIBNOR S.C. Para la determinación de nitritos, nitratos, amonio, ortofosfatos y clorofila “a”, se filtraron las muestras de agua y se siguieron las técnicas compiladas por Contreras-Espinosa (1984) y Strickland y Parsons (1972). Las técnicas específicas para cada nutriente se enlistan en la Tabla I.

Tabla I. Técnicas empleadas para la determinación de nutrientes en el agua de mar

Nutriente	Técnica
N-NO ₂	Diazotización / Espectrofotometría
N-NO ₃	Reducción por cadmio y diazotización / Espectrofotometría
N-NH ₄	Óxido-reducción (azul de indofenol) / Espectrofotometría
PO ₄	Reacción de molibdato / Espectrofotometría

Nota: La concentración de nutrientes inorgánicos disueltos se expresan en $\mu\text{M L}^{-1}$.

Figura 1. Área de estudio indicando la ubicación de las lagunas costeras y los sitios de muestreo.

Estimaciones de flujos de nutrientes

Los flujos de nutrientes y el metabolismo neto del ecosistema se estimaron mediante el modelo biogeoquímico LOICZ, descrito en Gordon *et al.* (1996).

El modelo se construye en tres etapas que consisten en: (1) balance de agua, (2) balance de sal, y (3) balance de materiales no conservativos. Las ecuaciones generales que se utilizan para calcular estos balances son:

$$dV / dt = VQ + VP + VG + VO - VE + VR \text{ (Ec. 1)}$$

$$d(VS)/dt = VPSP - VESE + VRSR + VX(SOCN - SSIS) \text{ (Ec. 2)}$$

$$d(VY)/dt = VRYS + VX(YOCN - YSIS) + \Delta Y \text{ (Ec. 3)}$$

donde VQ son aguas residuales (en nuestro caso se asumió a cero), VP son lluvias, VG es el aporte del manto freático (en nuestro caso se asumió a cero), VO son otros aportes (en nuestro caso se asumió a cero), VE es evaporación y VR es el flujo residual, que contiene el volumen en el sistema. SOCN y SSIS son las salinidades del océano y sistema (Estero Siuti), respectivamente. ΔY es el flujo del material no conservativo (Fósforo Inorgánico Disuelto FID y Nitrógeno Inorgánico Disuelto NID). YR es el valor promedio del material no conservativo entre dos fronteras. YOCN, YSIS son los valores promedio del material no conservativo del océano y sistema, respectivamente.

Estimaciones de metabolismo neto y de fijación de Nitrógeno/Desnitrificación

El metabolismo neto del ecosistema (MNE), que representa la diferencia entre la producción de carbono (p) y la respiración (r) fue estimado con la siguiente ecuación:

$(p-r) = -DFID \times (C:P)_{part}$ donde $(C:P)_{part}$, es la razón carbono a fósforo en la materia orgánica particulada que está siendo reciclada en el sistema. En la estimación se asume el índice molar de Redfield (1934), C:P 106:1.

El balance entre fijación de nitrógeno y desnitrificación fue estimado con la ecuación:

$$(N_{fij} - Desnit) = DNID_{obs} - DFID \times (N:P)_{part}$$

donde DNID_{obs} es el flujo no conservativo de NID estimado y la expresión $DFID \times (N:P)_{part}$ es el flujo no conservativo de NID esperado. $(N:P)_{part}$ es la razón nitrógeno a fósforo y representa la cantidad de fósforo atribuida a la descomposición de la materia orgánica, asumiendo el índice molar de Redfield (1934), N:P 16:1. Se ha establecido que la diferencia entre el DNID observado y el DNID esperado es equivalente a la diferencia entre la fijación de nitrógeno y la desnitrificación.

RESULTADOS

Las concentraciones de nitrógeno inorgánico disuelto (NID) más bajas se observaron en primavera, verano y otoño tanto en El Soldado como en El Rancho, con valores mínimos en otoño (0.05 y 0.1 μM), respectivamente. Mientras que en invierno ambos sistemas mostraron las concentraciones más elevadas con valores promedios de 4.5 μM en El Soldado y 12.1 μM en El Rancho (Fig. 2a).

La concentración de fósforo inorgánico disuelto fue mayor en invierno en ambas lagunas, con valores promedio de 1.50 μM en El Soldado y 2.22 μM en El Rancho; las concentraciones promedio más bajas se observaron en verano (0.8 y 1 μM) y otoño (0.5 y 0.9 μM) en El Soldado y El Rancho, respectivamente (Fig. 2b).

Figura 2. Comparación de la variabilidad estacional de a) nitrógeno inorgánico disuelto, b) fósforo inorgánico disuelto, entre las lagunas El Soldado y El Rancho

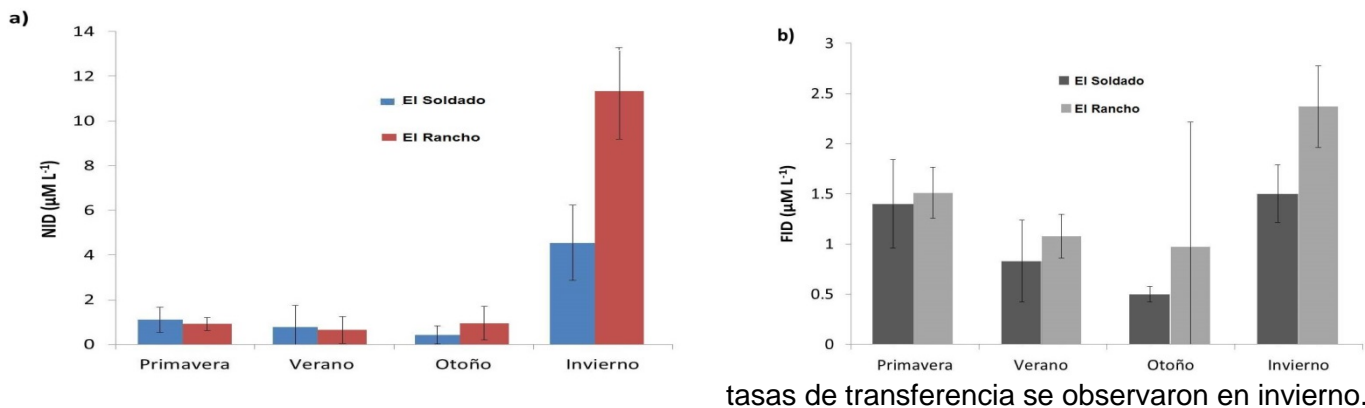
Balance biogeoquímico

Tiempo de residencia

En la laguna El Soldado la tasa de renovación del agua fue más alta en primavera (3.2 días) y más baja en invierno (1.1 días). En la laguna El Rancho la tasa de renovación del agua fue más alta en verano (1.6 días) y más baja en primavera (0.4 días) y otoño (0.5 días) (Tabla I).

Flujo de nutrientes

Los flujos de nitrógeno mostraron que la laguna El Soldado exportó NID al mar adyacente, funcionando como fuente en primavera, e importó NID en verano, otoño e invierno; las mayores



tasas de transferencia se observaron en invierno.

En la laguna El Rancho se observó exportación de NID en primavera y verano, e importación en otoño e invierno, con tasas más altas de exportación e importación en verano e invierno, respectivamente (Tabla I).

Los flujos de FID (fósforo inorgánico disuelto) mostraron que ambos sistemas se comportaron como fuente en verano, observándose una mayor tasa de transferencia hacia el mar adyacente en la laguna El Rancho; en primavera, otoño e invierno ambas lagunas se comportaron como sumidero, observándose la mayor tasa de importación en otoño en la laguna El Rancho (Tabla I).

Metabolismo neto del ecosistema

En ambas lagunas, el metabolismo neto del ecosistema fue autótrofo en primavera, otoño e invierno con mayores tasas de autotrofia en otoño en la laguna El Rancho. En verano ambas lagunas mostraron un metabolismo heterótrofo, observándose una tasa de heterotrofia más alta en El Rancho (Tabla I).

En ambas lagunas, la fijación de nitrógeno excedió a la desnitrificación en primavera, otoño e invierno, la mayor tasa de fijación se observó en El Rancho en otoño; en verano se observó desnitrificación con mayor tasa en la laguna El Rancho (Tabla I).

Tabla I. Comparación de los flujos de nutrientes, tiempo de residencia y metabolismo neto en la laguna El Soldado y la laguna El Rancho

	Primavera		Verano		Otoño		Invierno	
	<u>El Soldado</u>	<u>El Rancho</u>	<u>El Soldado</u>	<u>El Rancho</u>	<u>El Soldado</u>	<u>El Rancho</u>	<u>El Soldado</u>	<u>El Rancho</u>
NID (mmol m ² día ⁻¹)	0.033	0.018	-0.021	0.125	-0.011	-0.042	-0.413	-0.97
DIF (mmol m ² día ⁻¹)	-0.023	-0.08	0.035	0.153	-0.033	-0.251	-0.093	-0.092
R del agua (días)	3.2	1.6	1.2	0.4	2.4	0.5	1.1	0.9
-R (mmol C m ² día ⁻¹)	2.46	8.53	-3.7	-15.44	3.54	26.6	9.87	9.73
fix-denit (mmol m ² día ⁻¹)	0.4	1.3	-0.45	-2.21	0.52	3.97	1.08	0.5
Condición	Aut.	Aut.	Het.	Het.	Aut.	Aut.	Aut.	Aut.
	Fij.	Fij.	Desn.	Desn.	Fij.	Fij.	Fij.	Fij.

Het, Heterótrofo; Aut, Autótrofo; Desn, Desnitrificación; Fij, Fijación.

DISCUSIÓN

El mayor aporte de nutrientes observado en invierno en ambas lagunas se asocia a la influencia de surgencias costeras que ocurren en esta región del Golfo de California durante invierno-primavera (Lluch-Cota, 2000). Este comportamiento coincide con estudios realizados por Falcao y Vale (2003), durante invierno-primavera los nutrientes son más abundantes en el mar que dentro de la laguna. Siendo el mar adyacente una importante fuente estacional de nutrientes (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2016). En primavera, verano y otoño las concentraciones de nutrientes fueron más bajas, cuando las principales fuentes son: (1) mineralización de la materia orgánica a temperaturas más elevadas, (2) aporte por escorrentías de lluvias en esta región semiárida (<300 mm año⁻¹) (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2016), y adicionalmente (3) el efecto de las descargas de nutrientes de la granja camaronícola en El Rancho.

Tiempo de residencia del agua

Los tiempos de residencia del agua menores a cuatro días observados en ambos sistemas, son explicados por la magnitud de las tasas de evaporación que inciden en el volumen de agua que sale del sistema y que debe ser compensado por el mar, así como en la diferencia de salinidad entre la laguna y el mar (Valenzuela-Siu *et al.*, 2007), aunado al intercambio de agua por mareas (Smith *et al.*, 2005). Las bajas tasas de renovación del agua son un factor que minimiza la susceptibilidad de las lagunas a la eutrofización, debido a que facilita la dilución y el flujo de nutrientes y reduce el crecimiento de la biomasa de fitoplancton (Scavia y Liu 2006; Whitall *et al.*, 2007; Garmendia *et al.*, 2012). Específicamente, en las lagunas Guaymas y Lobos de esta región semi-árida subtropical, se observaron tiempos de residencia del agua < 10 días y esto

implicó que los sistemas resultarán menos susceptibles a manifestar síntomas de la eutrofización (Ruiz-Ruiz *et al.* 2016; Ruiz-Ruiz *et al.*, 2017).

Flujo de nutrientes

Los flujos de NID mostraron que la laguna El Soldado funcionó como sumidero de nitrógeno en verano, otoño e invierno. Mientras que El Rancho fue sumidero de nitrógeno en otoño e invierno, la mayor tasa de transferencia observada en invierno en ambas lagunas se atribuye al abastecimiento de nutrientes desde el mar adyacente por eventos de surgencias (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2016) y esto coincide con lo observado en bahía Magdalena en periodos de surgencias (Cervantes-Duarte *et al.*, 2016). Por otro lado, El Soldado funcionó como fuente de nitrógeno en primavera. Mientras que El Rancho se comportó como fuente de nitrógeno en primavera y verano, esto coincide con el periodo de mayor fijación de nitrógeno que se presenta en primavera en estas lagunas de la región (Valenzuela-Siu *et al.*, 2007), y al abastecimiento de nitrógeno liberado en los efluentes camaronícolas en El Rancho, ya que menos del 30% es retenido como biomasa y el resto es descargado en lagunas costeras y el mar (Páez-Osuna, 2001; Magallón-Barajas *et al.*, 2009).

Los flujos del FID indicaron, que ambos sistemas se comportaron como sumidero en primavera, otoño e invierno, pero en El Rancho con mayores magnitudes en la tasa de importación de fósforo en otoño, atribuido a que en otoño inicia la cosecha de la granja de cultivo de camarón, y los estanques son drenados, de tal forma que los efluentes transportan sedimentos de los estanques ricos en fósforo (Páez-Osuna *et al.*, 1999; Barraza-Guardado *et al.*, 2013). Páez-Osuna (2001) observó que del total de fósforo contenido en el alimento, sólo el 20 % se convierte en biomasa de camarón y el resto es liberado al ambiente. Mientras que las bajas transferencia de importación observada en El Soldado se asocian al aporte del reciclaje de fosforo por remineralización (Gilmartin y Revelante, 1978). En verano, ambas lagunas se comportaron como fuente de fósforo pero El Rancho con mayor magnitud, lo cual se atribuye a la influencia de los efluentes camaronícolas, y a la mayor tasa de reciclaje de fósforo por mineralización; mientras que en El Soldado la transferencia de exportación es menor debido a la ausencia de fuentes antropogénicas y a estar basada en la tasa de reciclaje de fósforo por mineralización y aporte por escorrentías de lluvias que son escasas. Por lo tanto, el valor positivo del fósforo en estas lagunas de la región refleja que la degradación de la materia orgánica excede la producción primaria (Padilla-Arredondo *et al.*, 2002).

Metabolismo neto del ecosistema

El metabolismo neto presentó un comportamiento similar en ambas lagunas, siendo autótrofo en primavera, otoño e invierno pero heterótrofo en verano. El metabolismo neto autótrofo en invierno es explicado debido a que se producen eventos de surgencias costeras con aguas ricas en nutrientes (Lluch-Cota, 2000), y esto favorece el incremento en las tasas de producción de materia orgánica. Por lo tanto, ambos sistemas están produciendo más materia orgánica de la que están consumiendo. Como ha sido observado por Valenzuela-Siu *et al.*, (2007) en la laguna Lobos, ubicada en la región del Golfo de California. Pero la mayor magnitud de autotrofía la presentó El Rancho en otoño, la cual se atribuye al suministro de nutrientes del efluente camaronícola por la cosecha de la granja. Este evento de alta producción primaria impulsó hacia una alta autotrofía a El Rancho en comparación con El Soldado. Por otro lado, el metabolismo neto heterótrofo observado en verano en ambos sistemas se debe a temperaturas

del agua $>30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y valores más bajos de oxígeno disuelto en el año $\sim 4\text{ mg L}^{-1}$, que favorecen la actividad bacteriana (Caffrey, 2004) y tasas más altas de respiración por la degradación - mineralización- de materia orgánica, así como al mayor aporte de hojarasca del manglar como fuente de materia orgánica en esta estación del año (Arreola-Lizárraga *et al.*, 2004), otra fuente importante de materia orgánica en la laguna El Rancho son los efluentes camaronícolas.

Fijación de Nitrógeno / Desnitrificación

La predominancia de procesos de fijación de nitrógeno durante primavera, otoño e invierno se presentó en ambos sistemas. En invierno se atribuye a la mayor abundancia de nitrógeno en el mar adyacente asociado a eventos de surgencias, tal como como ha sido observado por Almeda, (1999), Valenzuela-Siu *et al.* (2007), Arreola-Lizárraga *et al.* (2015) y Cervantes-Duarte (2016). La mayor fijación observada en otoño en El Rancho parece ser propiciada por el aporte de nitrógeno de los efluentes camaronícolas, ya que en otoño inicia la cosecha de la granja y los estanques son drenados. Por otro lado, la desnitrificación -liberación de nitrógeno- prevalece en verano en ambos sistemas y esto se atribuye a las altas tasas de respiración por la degradación de materia orgánica y valores promedio de oxígeno disuelto $\sim 4\text{ mg L}^{-1}$ en la columna de agua, aunado a la temperatura $> 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la columna de agua. Adicionalmente, otra fuente importante de nitrógeno en El Rancho son los efluentes camaronícolas que pueden alterar las concentraciones de nutrientes y bacterias en los cuerpos receptores (Barraza-Guardado *et al.*, 2013).

CONCLUSIONES

Las lagunas El Soldado y El Rancho tienen tasas de renovación del agua < 3 días a través del año, indicando buen intercambio de agua, materiales y energía con el mar adyacente. Los flujos de NID mostraron que la laguna El Soldado funcionó como sumidero de nitrógeno en verano, otoño e invierno y como fuente en primavera. El Rancho fue sumidero de nitrógeno en otoño e invierno y funcionó como fuente en primavera y verano. En ambas lagunas se observó exportación de FID en verano e importación en primavera, otoño e invierno; el metabolismo neto fue heterótrofo en verano y autótrofo en primavera, otoño e invierno y prevalecieron procesos de desnitrificación en verano y procesos de fijación de nitrógeno en primavera, otoño e invierno. Los procesos de surgencias en el mar adyacente observados en invierno son una fuente importante de nutrientes con efectos en incrementos en las tasas de los flujos de nutrientes y el metabolismo neto de estas lagunas costeras. El aporte de nutrientes por efluentes camaronícolas incrementó las tasas de transferencia de nutrientes, metabólicas y de desnitrificación en El Rancho con respecto a El Soldado.

LITERATURA CITADA

- Arreola L.J.A., Padilla A.G., J. Medina G.L., Méndez R.R., Mendoza S.M.V., Cordoba M. 2016. An analysis of hydrobiological responses to anthropogenic and natural influences in a lagoon system in the Gulf of California. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45 (1): 112-120. ISSN 1730-413; DOI: [10.1515/ohs-2016-0011](https://doi.org/10.1515/ohs-2016-0011)
- Arreola L.J.A., Padilla A.G., Garatuza P.J. y Ruiz R.T.M.. 2015b. Síntesis de procesos biogeoquímicos en la laguna costera La Luna, México. *Memorias en extenso X Congreso*

de Ciencias del Mar MARCUBA. GAMA Sello Editorial, pp. 296. ISBN: 978-959-300-080-2.

- Almeda, C. 1999. Estero el Sargento, Sonora. In: Smith, S.V., J.I. Marshall-Crossland and C.J. Crossland. Mexican and Central American Coastal Lagoon Systems: Carbon, Nitrogen and Phosphorus Fluxes (Regional Workshop II), LOICZ Reports & Studies No. 13. The Netherlands. pp.115.
- Arreola L.J.A., Padilla A.G., Ortega R.A. 2004. Experiencias de manejo en la zona costera del Pacífico: La Bahía de Guaymas, un caso específico. En: Rivera-Arriaga E., G. J. Villalobos, I. Azuz-Adelante, F. Rosado (eds.). El manejo costero de México. Universidad Autónoma de Campeche, SEMARNAT, CETYS-Universidad, Universidad de Quintana Roo. pp. 375-386.
- Barbier E.B., Hacker S.D., Kennedy C., Koch E.W., Stier A.C., Silliman B.R. 2011. The Value of Estuarine and Coastal Ecosystem Services. Ecological Monographs, 81: 169–183. <https://doi.org/10.1890/10-1510.1>
- Barraza G.R.H., Arreola L.J.A., Lopez T.M.A., Casillas H.R., Miranda B.A., Magallón B.F., Ibarra G. C. 2013. Effluents of shrimp farms and its influence on the coastal ecosystems of Bahia de Kino, Mexico. The Scientific World Journal DOI: 10.1155/2013/306370
- Caffrey J.M. 2004. Factors controlling net ecosystem metabolism in U.S. Estuaries. Estuaries, 27: 90–101.
- Cervantes D.R. 2016. Nutrient fluxes and net metabolism in a coastal lagoon SW peninsula of Baja California, Mexico. Revista Bio Ciencias, 4(2): 104-115. ISSN 2007-3380 E-mail.: rcervan@ipn.mx
- Contreras E.F. y Warner B.G.. 1984. Manual de técnicas hidrobiológicas. Edit. Uan-Iztapalapa. México DF. pp. 145.
- Falcao M., Vale C. 2003. Nutrient dynamics in a coastal lagoon (Ria Formosa, Portugal): the importance of lagoon-sea water exchanges on the biological productivity. Ciencias Marinas, 29: 425–433. E-mail: cvale@ipimar.pt
- Garmendia M., Bricker S., Revilla M., Borja A., Franco J., Bald J., Valencia V. (2012). Eutrophication assessment in Basque estuaries: comparing a North American and a European method. Estuar Coasts., 35(4): 991–1006. doi: [10.1007/s12237-012-9489-8](https://doi.org/10.1007/s12237-012-9489-8)
- Gilmartin M. y Revelante N.. 1978. The phytoplankton characteristics of the barrier island lagoons of the Gulf of California. Estuarine & Coastal Marine Science, 7: 29 - 47.
- Gordon, D.C.Jr., Boudreau P.R., Mann K.H., Ong J.E., Silvert W.L., Smith S.V., Wattayacom G., Wulff F., Yanagi T. 1996. LOICZ Biogeochemical Modelling Guidelines, LOICZ Reports & Studies No. 5. 96 p.
- Lankford, R.R. 1977. Coastal lagoon of Mexico, their origin and classification. In: M. Wiley (ed.) Estuarine Process. Academic Press, Inc. New York, pp. 182-215.
- Lara L.J.R. Arreola L.J.A. Calderón A.L.E. Camacho I.V. F. de la Lanza-E.G., Escofet G.A., Espejel C M. I., Guzmán A.M., Ladah L.B., López H.M., Meling L.E.A., Moreno C.B.P., Reyes B.H., Ríos J.E. y Zertuche G.J.A. 2008. Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales. En: Capital Natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. pp.109-134
- Lluch-Cota S. 2000. Coastal upwelling in the eastern Gulf of California. Oceanol Acta., 23(6): 731- 740.

- Mackenzie, F.T., De Carlo, E.H., y Lerman, A. 2011. Coupled C, N, P, and O biogeochemical cycling at the land-ocean interface. En: *Treatise on Estuarine and Coastal Science*, edited by: Wolanski, E. and McLusky, D.S., Academic Press, Waltham, 317–342.
- Medina GJ., Padilla-A.G., y Arreola-L.J.A. 2018. Flujos de nutrientes y metabolismo neto del estero Siuti (eurihalino, subtropical) en el Golfo de California. En: F. Paz, A. Velázquez y M. Rojo (eds.). *Estado Actual del Conocimiento del Ciclo del Carbono y sus Interacciones en México: Síntesis a 2018* (pp. 302-308). Serie Síntesis Nacionales. Programa Mexicano del Carbono en colaboración con el Instituto Tecnológico de Sonora. ISBN pendiente. Texcoco, Estado de México, México. 678 p.
- Magallon B.F.J., Arreola L.J.A., Portillo C.G., Casillas H.R., Lechuga D.C., et al. (2009). Capacidad de Carga y Capacidad ambiental en la Camaronicultura. En L.R. Martínez-Cordova (Ed.). *Camaronicultura Sustentable* (2009), pp. 51-109. Editorial Trillas. Mexico, D.F.
- Nixon S. 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*, 41:199–219.
- Padilla A.G., Arreola L.J.A., y Lechuga D.C. 2002. Las Guásimas coastal lagoon, Sonora, México. En: Camacho-Ibar, V.F., V. Dupra, J.I. Marshall-Crossland, F. Wulff, S.V. Smith, y C.J. Crossland (Eds.). *Estuarine systems of the Latin American region (Regional Workshop V) and estuarine systems of the Arctic Region: carbon, nitrogen and phosphorus fluxes. LOICZ Report & Studies No 23*. pp. 96.
- Páez O.F., Guerrero G.S.R. y Ruiz F.A.C. 1999. Discharge of nutrients from shrimp farming to coastal waters of the Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 585-592. e-mail: paezos@sevidor.unam.mx
- Páez O.F. 2001a. Descarga de nutrientes procedentes de la camaronicultura, Agricultura y las aguas municipales en la zona costera del Golfo de California. Pp. 193-206. En: Páez-Osuna, F. (Ed). *Camaronicultura y medio ambiente*. ICMYL-UNAM, Colegio de Sinaloa. México. 451 p. DOI: 10.1007/s002670010212
- Ramesh R., Chen Z., Cummins V., Day J., D'Elia C., Dennison B., Forbes D.L., Glaeserg B., Glaserh B., Glavovici M., Kremerj H., Langec M., Larsenk J.N., Le Tissierc M., Newton A., Pelling M., Purvaja R., y Wolanski E.. 2015. Land–Ocean Interactions in the Coastal Zone: Past, present & future. *Anthropocene*, 12: 85–98. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ancene.2016.01.005>
- Ruiz R.T.M., Arreola L.J.A., Morquecho L., Mendoza S.R.A., Martínez L.A., Méndez-R.L.C., Enríquez-F.J. (2016) Assessment of eutrophication in a semi-arid subtropical lagoon in the Gulf of California. *Aquat Ecosyst Health Manag* 19: 382–392.
- Ruiz R.T.M., Arreola L.J.A., Morquecho L., Méndez-Rodríguez L.C., Martínez-López A., Mendoza-Salgado R.A. 2017. Detecting eutrophication symptoms by means of three methods in a subtropical semi-arid coastal lagoon. *Wetlands*, doi 10.1007/s13157-017-0944-y
- Smith J., Burford M.A., Revill A.T., Haese R.R., y Fortune J. 2012. Effect of nutrient loading on biogeochemical processes in tropical tidal creeks. *Biogeochemistry* 108: 359–380, doi:10.1007/s10533-011-9605-z
- Strickland J.D. and Parsons T.R.. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Fish. Res. Bd. Canada Bulletin 167 (second edition). pp. 71-80, 49-52 and 263-266.

- Smith S.V., Buddemeier R.W., Wulff F., Swaney D.P. 2005. C, N, P fluxes in the coastal zone. In: Crossland, C.J., Kremer, H.H., Lindeboom, H.J., Marshall-Crossland, Le Tissier, M.D.A. (Eds.), *Coastal Fluxes in the Anthropocene*. Springer, Berlin, pp. 95–143.
- Scavia D. and Liu Y. (2006). Exploring estuarine nutrient susceptibility. *Environ. Sci. Technol.*, 43: 3474-3479. DOI:10.1021/es803401y.
- Valenzuela S. M., Arreola L.J.A., Sánchez C.S., y Padilla A.G. 2007. Flujos de nutrientes y metabolismo neto de la laguna costera Lobos, México. *Hidrobiológica* 17(3): 193-202.
- Whitall D., Bricker S., Ferreira J., Nobre A.M., Simas T., and Silva M. (2007). Assessment of Eutrophication in Estuaries: Pressure–State–Response and Nitrogen Source Apportionment. *Environ. Manage.*, 40: 678-690. DOI:10.1007/s00267-005-0344-6.

EFFECTOS DE LOS NIVELES DE PROTEINA EN LA RESPUESTA DE ENZIMAS METABOLICAS Y DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE EN *Oreochromis sp*

IBQ. Edgar Germán Gómez Ávila¹, Dra. María Isaura Bañuelos Vargas¹, Dr. Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca¹, Dra. Crisantema Hernández González², Dr. José Cristóbal Román Reyes¹, Dr. Martín Gabriel Frías Espericueta¹.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. edgar_facimar@uas.edu.mx.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Unidad Mazatlán.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo sostenible de la acuicultura intensiva está fundamentado en el uso óptimo de los nutrientes por las especies cultivadas y del mantenimiento de la calidad del agua. Para lograr el adecuado uso de los nutrientes se necesita conocer los requerimientos de los organismos (Méndez *et al.*, 2018). En los peces, la proteína es el principal nutriente de la alimentación, donde su nivel requerido está relacionado con el balance de energía-proteína y de las características de su metabolismo intermediario específico (Arzel *et al.*, 1998). Por otra parte, se ha reportado que los sistemas con biofloc, además de favorecer la calidad del agua de los cultivos, podrían ejercer un efecto positivo sobre la actividad enzimática digestiva de los organismos en cultivo como la tilapia (Azim y Little, 2008; Ekasari *et al.*, 2014; Luo *et al.*, 2013). En el año 2016, la tilapia fue la principal especie, en volumen de producción en acuicultura mexicana, con más de 152 000 toneladas (FAO,2018). En México, la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA), junto con Worldfish, la red de tilapia de México, productores, investigadores y comercializadores, han diseñado estrategias para promover el desarrollo intensivo de la producción de tilapia (CONAPESCA, 2017). A su vez, se han generado organismos mejorados como la tilapia roja, un híbrido proveniente de selecciones genéticas a partir de cuatro especies parentales: *Oreochromis aureus*, *O. niloticus*, *O. mossambicus* y *O. urolepis hornorum* (Prieto y Olivera, 2002). Sin embargo, poco se sabe sobre su metabolismo intermediario y de su sistema de defensa antioxidante en relación a diferentes condiciones nutricionales o por su cultivo en sistemas con biofloc en agua de mar.

ANTECEDENTES

Para todas las especies se debe considerar que las necesidades de proteína están influenciadas por la calidad de la misma, factores ambientales, en especial temperatura y de manera particular, por la edad del animal (Guevara, 2003). Así, los requerimientos de proteína reportados para la especie tilapia *O. niloticus* son diferentes según su etapa de desarrollo: larva de 40 – 46 % de proteína bruta (PB) (El-Sayed, 1990), alevín de 2.4 g de 30 – 34 % de PB (El-Sayed *et al.*, 2003) y para el juvenil (6.1 g) entre 26 – 32 % de PB (Winfrey y Stickney, 1981; Jauncey y Ross, 1982).

Méton *et al.*, (1999) han estudiado los efectos de la composición de la dieta y el tamaño de la ración sobre la actividad de enzimas clave en el metabolismo intermediario del hígado de la dorada (*Sparus aurata*). Sus resultados muestran un alto grado de correlación positiva entre el tamaño de la ración del alimento y la actividad de las enzimas 6-fosfofructo 1-quinasa (PFK-1), piruvato quinasa (PK), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD, G6PDH) y fructosa-1,6-

bifosfatasa (F1,6BP). Así mismo, Pérez (2007) observó un incremento en el catabolismo lipídico hepático del dentón (*Dentex dentex*) que refleja el uso de las reservas lipídicas como fuente de energía fundamental para el mantenimiento del animal. La autora afirma que el patrón de respuesta de esta especie corresponde con el observado en la mayoría de los peces, donde glucógeno y lípidos son los primeros sustratos utilizados para la supervivencia, mientras que las proteínas se emplean cuando las reservas anteriores han sido prácticamente agotadas

.JUSTIFICACIÓN

La proteína en la alimentación es el factor que más influye en el desarrollo de la acuicultura, ya que constituye el costo variable más importante en una operación de cultivo, representando entre el 50 y el 70% de los costos de operación. Aunque existen alternativas de complementos nutricionales como la que provee el biofloc, que aportan alimento natural al sistema de producción, poco se sabe de sus limitantes nutricionales ante el uso de dietas con bajos niveles de proteína disponible. Asimismo, también se necesita información de la capacidad de adaptación metabólica de organismos híbridos como la tilapia roja y sus repercusiones en sus sistemas de defensa como el antioxidante.

Preguntas de investigación:

¿Cómo influirán las variaciones del contenido de proteína de la dieta en la respuesta de enzimas clave del metabolismo de juveniles híbridos de tilapia roja cultivados en agua marina con biofloc?

¿Cómo influirán Las variaciones del contenido de proteína de la dieta en la respuesta del sistema de defensa antioxidante de juveniles híbridos de tilapia roja cultivados en agua marina con biofloc?

HIPÓTESIS

los juveniles de tilapia roja alimentados con tres niveles distintos de proteína tendrán una adaptación positiva en la actividad enzimática del metabolismo y en el sistema antioxidante que se complementará con el alimento natural que provee el biofloc.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

Objetivo general

Evaluar la respuesta metabólica y antioxidante en hígado de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) alimentada con distintos niveles de proteína durante su cultivo en agua de mar con biofloc.

Objetivos específicos

- Determinar la supervivencia y crecimiento de los juveniles de tilapia roja cultivados en sistemas de biofloc.
- Medir la actividad enzimática metabólica hepática de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).
- Evaluar la respuesta del sistema antioxidante hepático de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).

-Determinar si existe correlación entre las respuestas de las diferentes enzimas analizadas y los niveles de proteína experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Formulación y elaboración de dietas

Se formularán y elaborarán 3 dietas extruidas con diferentes niveles de proteína bruta (PB): 25, 30 y 35% (P25, P30 y P35, respectivamente). Todas las dietas experimentales serán isolipídicas e isoenergéticas. Se utilizará una dieta comercial con 35% de proteína (Nutripec) como control (DC).

Análisis proximales

Los análisis de humedad, cenizas y proteínas se determinarán de acuerdo a las metodologías descritas por la AOAC (2000). El contenido de lípidos totales se realizará según el método modificado de Folch *et al* (1972).

La determinación de glucógeno hepático se realizará de acuerdo al método de Plummer (1987).

Diseño experimental

Los peces que se utilizarán para el experimento serán juveniles híbridos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) masculinizadas de entre 1 a 5 g, los cuales serán adquiridos a la empresa "Campo Inglés" del estado de Morelos) y trasladados al laboratorio de cultivo de peces de la Facultad de Ciencias del Mar, en Mazatlán, Sinaloa, donde se llevará a cabo el bioensayo por un periodo de 8 semanas.

El experimento se realizará en un sistema de 12 tanques independientes con capacidad de 3100 L (densidad de 130 organismos por m³) para los 4 tratamientos (P25, P30 y P35 y DC), con 3 réplicas cada uno que serán distribuidas completamente al azar. Para la aireación se utilizarán aireadores circulares de manguera Aerotube® de 1/2" (25 cm de diámetro) conectados a un blower de 2.5 HP. Se utilizará agua de mar de la bahía de Mazatlán (previamente filtrada a 10 µm) para las diferentes unidades experimentales. Una semana previa al experimento, todos los peces serán alimentados con una dieta comercial (Nutripec 41% Proteína bruta) a un 5% de la biomasa total. Posteriormente, y durante una semana se hará la aclimatación de los peces a la dieta correspondiente a cada tratamiento experimental. La ración de alimento por tanque se suministrará dos veces al día a las 8:00 y 17:00 h, respectivamente.

Parámetros fisicoquímicos: Durante todo el periodo experimental se realizará diariamente el monitoreo de temperatura (T °C), oxígeno disuelto (mg/L) con un equipo multiparametros (YSI PRO2030 Professional) y, cada tercer día, se medirá la salinidad (%) con un refractómetro. Semanalmente, se tomará una muestra de agua para medir el pH, amonio (mg/L), nitratos (mg/L), nitritos (mg/L) y alcalinidad (mg/L) utilizando kits comerciales de YSI y Hanna,

respectivamente. En caso de que la alcalinidad sea menor a los 100 mg/L, se adicionará hidróxido de calcio para ajustar a esa concentración. La cantidad de flóculos (ml/L) se medirá una vez por semana, utilizando conos de sedimentación Imhoff de 1L.

Biometrías de peso y obtención de muestras

Durante la etapa experimental, semanalmente se realizarán biometrías de peso (± 0.01 g) y longitud (± 0.1 cm) de una muestra de 20 org por tanque. Los datos se usarán para calcular la biomasa y ajustar la ración de alimento e ingredientes para promover el biofloc.

Al final del experimento, y durante 24 h previas al muestreo, se dejará de dar alimento balanceado a los peces experimentales. Posteriormente, se realizarán las biometrías de peso y talla individual de los organismos. Se tomarán muestras de alimento, pez entero, músculo e hígado y se almacenarán a -20°C para los análisis de composición proximal posteriores.

Asimismo, 3 peces por tanque serán sacrificados en un baño de agua helada para la obtención del hígado. Inmediatamente después de su extracción, este será introducidas en nitrógeno líquido y posteriormente almacenados a -80°C , donde permanecerán hasta su procesamiento para los análisis enzimáticos y de glucógeno.

Parámetros de supervivencia, crecimiento y conversión alimenticia.

Con los datos de peso final, alimento y proteína consumida se calcularán el Factor de Conversión Alimenticia, la Tasa de Crecimiento Específico (TCE), y la Tasa de Eficiencia Proteica (TEP). Asimismo, será determinada la Supervivencia (S%) de los organismos.

Elaboración de extractos hepáticos para los análisis enzimáticos: Una porción de hígado, aproximadamente 400 mg, será homogeneizado a una proporción 1: 4 de muestra: buffer 50 Mm Tris-HCL, pH 7.5, a una temperatura de 4°C , utilizando un homogeneizador con pistilo. Las muestras homogenizadas serán centrifugadas a 10,000 g a 4°C durante 30 min. El sobrenadante será retirado y se utilizará como extracto crudo enzimático (ECE) formando alícuotas de 0.6 ml. Los extractos enzimáticos se almacenaron a -80°C hasta su análisis.

Determinación de proteínas solubles: La concentración de proteínas solubles en los tejidos se determinarán por el método Bradford (1976).

Actividad enzimática del metabolismo intermediario

La determinación de la actividad de las enzimas clave implicadas en el metabolismo intermediario (glucolisis, gluconeogénesis y lipogenesis) se realizará mediante lectura de cambios en la absorbancia de una mezcla de reacción. Las enzimas a analizar son:

Glucolisis: Hexoquinasa y glucoquinasa.

Gluconeogénesis: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y fructosa-1,6-bifosfatasa.

Lipogenesis: enzimas málicas, ácido graso sintasa.

Determinación de la actividad de enzimas antioxidantes: En el presente estudio se realizará el análisis de la actividad de las siguientes enzimas: superóxido dismutasa (SOD, E.C. 1.15.1.1) se determinará según el método de McCord y Fridovich (1969); catalasa (CAT, E.C. 1.11.1.6), glutation peroxidasa (GPX, E.C. 1.11.1.9) y glutation reductasa (GR, E.C. 1.6.4.2) se determinará según los métodos descritos por Aebi (1984), Flohé y Günzler (1984) y el método modificado de Carlberg y Mannervik (1975), respectivamente.

Indicadores de daño oxidativo: La medida de los productos finales de la peroxidación lipídica es uno de los métodos más comúnmente utilizados como índice de daño oxidativo. Entre estos productos se encuentra el malondialdehído (MDA), cuya concentración será determinada por el método propuesto por Buege y Aust (1978).

Análisis estadístico: Se realizará un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para determinar diferencias significativas entre grupos de datos, donde se considerarán diferencias significativas cuando $P < 0.05$; para lo cual se utilizará el programa de SPSS 20.0 para realizar los diferentes análisis estadísticos (Zar, 2010).

LITERATURA CITADA

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16ª Edición . Volumen 1. Arlington, VA.

Arzel, J., Metailler, R., Gall, L., y Gillaume, F. 1998. Relationship between ration size and dietary protein level varying at the expense of carbohydrate and lipid in triploid brown trout fry (*Salmo trutta*). *Aquaculture*, 162: 259-268.

Azim, M.E y D.C Litte. 2008. The biofloc technology (BFT) In indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia. (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*.283 (1), 29-35.

Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. 2017. Blog informativo. Fecha de publicación 06 de noviembre de 2017.

Ekasari, J.,A. Deasy, H.W. Setiyo, T. Bachtiar, E.H. Surawidjaja, P. Bossier y P. Deschryver. 2014. The size of biofloc determines the nutritional composition and nitrogen recovery by aquaculture animals. *Aquaculture* 426-427: 105-111.

El-Sayed, A.F.M. 1990. Long-term evaluation of cotton seed meal as a protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 84: 315-320.

El-Sayed, A.M., Mansour, C.R., y Ezzat, A.A., 2003. Effects of dietary protein level on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock reared at different water salinities. *Aquaculture* 220: 619-632.

FAO, 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos del desarrollo sostenible. Roma. 250 pp.

- Folch, J., Lees M. y Stanley G.A. 1995. Simple method of the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Guevara W., 2003. Formulacion y elaboracion de dietas para peces y crustaceos. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, facultad de ingenieria pesquera. Tacna, Perú. 2003.
- Luo G. Q.Gao, C. Wang, W Liu, D. Son y L.H Tan.2014. Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system . *Acuaculture* 422-423:1.7
- Méndez-Martínez *et al.*, 2018. Estado del arte del cultivo de tilapia roja / XX (2): 15-24 (2018) Volumen XX, Número 2.
- Méton *et al.*, 1999. Efecto de la composición de la dieta y el tamaño de la ración sobre las actividades enzimáticas clave de la glucólisis-gluconeogénesis, la vía de la fosfatasa y el metabolismo de los aminoácidos en el hígado de dorada (*Sparus aurata*). Departamento de Bioquímica, Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, y Departamento de Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. Barcelona, Spain. *British Journal of Nutrition* (1999), 82, 223–232).
- Pérez, 2007. Respuesta nutritiva, metabólica y balance redox del dentón (*Dentex dentex*) bajo diferentes condiciones nutricionales. Universidad de Granada, facultad de ciencias, departamento de biología animal. Granada 2008.
- Plummer, 1987. *An Introduction to Practical Biochemistry*. 3ª edición. McGraw Hill Book, Maidenhead, Berkshire, UK.
- Prieto C.A. y Olivera M.A. 2002. Incubación artificial de huevos embrionados de tilapia roja *Oreochromis sp.* *Rev. Col. Cienc.Pec.* 15: 115-120.
- Zar J. 2010. *Biostatistical Analysis*, fifth edition. Department of biological sciences. Northern Illinois University. Pearson editorial. 947 pp.

CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA IN SITU DE POBLACIONES DE MAÍCES NATIVOS EN CONCORDIA, SINALOA, MÉXICO

Valeria Gómez-Pérez¹, Pedro Sánchez-Peña¹, Teresa de Jesús Velázquez-Alcaraz¹, Saúl Parra-Terraza¹, Libia Iris Trejo-Téllez².

Maestría en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía. shey_jc_kayra@hotmail.com,
¹Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Colegio de Postgraduados, Montecillos, Estado de México

RESUMEN

Los estudios de caracterización *in situ* permiten conocer cómo se encuentra los recursos genéticos en los lugares donde éstos tienen su asentamiento, lo que permitiría establecer estrategias de aprovechamiento, conservación y mejoramiento. En este contexto, se caracterizó la variación agromorfológica *in situ* de 15 poblaciones de maíces nativos (*Zea mays*) de Concordia, Sinaloa, con la metodología de CIMMYT/IBPGR (1991), evaluando diez variables de características vegetativas, espiga, mazorca y grano. Se aplicó un análisis de varianza entre poblaciones para cada una de las variables evaluadas y se encontró diferencias significativas entre poblaciones, lo que se consideró como un indicador de diversidad en los maíces nativos. La población Jala reportó los promedios mayores para variables: número de hojas bajo de la mazorca, altura de planta y mazorca, longitud de mazorca (10.46 hojas, 377.62 cm, 199.96 cm y 21.7 cm); en hojas arriba de la mazorca, Chilero con 6.93 hojas; respecto a longitud del pedúnculo de espiga y longitud de espiga central, la población Colita (27.96 y 30.36 cm respectivamente); en cambio para longitud de parte ramificada fue Serrano Amarillo (16.57 cm); para número de espiguillas y ancho de grano la población Posolero (20.53 espiguillas y 142.8 mm). De las 15 poblaciones, Jala fue la que presentó los promedios más altos en seis de diez variables evaluadas y Huesito los promedios más bajos en seis de diez variables. Se confirmó la existencia de riqueza genética en los maíces nativos y la variación encontrada está en concordancia con los resultados reportados en estudios previos.

Palabras claves: *Maíces nativos, caracterización in situ, recursos genéticos, diversidad*

ABSTRACT

In situ characterization studies allow to know how the genetic resources are found in the places where they have their origin, which can be converted into strategies of exploitation, conservation and improvement. In this context, it was characterized, the agro-morphological variation in situ of 15 local landrace populations (*Zea mays* L.) from Concordia, Sinaloa, Mexico, by using CIMMYT/IBPGR methodology (1991), evaluating ten characteristics variables vegetative, spike, ear and grain width variables. An analysis of variance was applied among the populations for each of the evaluated variables and significant differences were found among population, which was considered as an indicator of the diversity in native landrace populations. The Jala population reported the highest averages for the variables, number of leaves under the ear, height of plant, height and length of ear (10.46 leaves, 377.62 cm, 199.96 cm and 21.7 cm);

number of leaves above the ear, Chilero with 6.93 leaves. Regarding the length of the spike peduncle and central spike length, the Colita population (27.96 and 30.36 cm respectively); however, for the length of the branched part of the spike, the Serrano Amarillo population (16.57 cm) and to number of spikelets and grain width, the Posolero population (20.53 spikelets and 142.8 mm). Of all populations evaluates 15, Jala was the one that presented the highest averages in six of the ten variables evaluated and Huesito the lowest averages in six of the ten variables. The existence of genetics in native landrace population was confirmed and the variation found is in agreement with the results reported in previous studies.

Keywords: *Native maize, characterization in situ, diversity, genetic resources*

INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de maíz es de gran importancia, no sólo por ser centro de origen; sino también, porque constituye parte de la dieta alimenticia de la población (Kato *et al.*, 2009). Desde su domesticación a la fecha, la variación generada en los maíces mexicanos, es producto de las condiciones de los numerosos nichos ecológicos en los que se ha venido cultivando en el país y de las selecciones realizadas por los campesinos en función de sus necesidades (Muñoz *et al.*, 2003). Del estado de Sinaloa, lo que más se conoce con relación al cultivo de maíz, son sus altos rendimientos, pero muy poco se conoce de los maíces nativos que se encuentran en las áreas de temporal y que albergan parte de la riqueza de la variación presente en el territorio nacional (Sánchez *et al.*, 2008). Al respecto, Palacios *et al.* (2008), encontraron variación agro-morfológica en 152 colectas de maíces nativos colectados en 15 de los 18 municipios de Sinaloa; sin embargo, también observaron que algunas razas reportadas para el estado, están prácticamente desaparecidas. Por su parte Morales (2012), en un estudio de caracterización fenotípica de 21 poblaciones de maíces nativos y/o criollos en condiciones de temporal para Sinaloa, confirmó variación fenotípica en los maíces y la presencia de las dos razas reportadas como desaparecidas por Palacios *et al.* (2008). La conservación *in situ* de las plantas permite la continuidad de los procesos de adaptación genética en las poblaciones locales cultivadas por los productores (Dzib *et al.*, 2016). Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre maíces nativos, se realizan fuera del ambiente donde estos se desarrollan (*ex situ*) y en ellos se estudian la variación para múltiples características (Hortelano *et al.*, 2008). De acuerdo con Serratos (2012), esto podría no reflejar el comportamiento de las poblaciones en los lugares donde tienen su asentamiento (*in situ*). Por lo que, investigaciones que tengan como propósito conocer cuál es la variación que tienen los maíces nativos en los lugares donde estos se cultivan, no sólo reflejaría la situación real de este recurso, sino que también, contribuirían a conocer la potencialidad de las poblaciones para futuros trabajos de mejoramiento genético; así como, para definir estrategias de conservación de la diversidad de maíz en México (Serratos, 2012); por ende, la caracterización, conservación, mejoramiento y producción de este recurso, debe ser considerado como un aspecto de seguridad nacional (Serratos, 2009). El objetivo de este trabajo fue caracterizar la variación agro-morfológica *in situ* de las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mayoría de los estudios sobre maíces nativos, se realizan fuera del ambiente donde estos se desarrollan (*ex situ*) y en ellos se estudian la variación para múltiples características, esto podría no reflejar el comportamiento de las poblaciones en los lugares donde tienen su asentamiento (*in situ*) y por ende no refleja la situación real de este recurso genético.

HIPÓTESIS

Existe variación agromorfológica *in situ* en las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la variación agromorfológica *in situ* de las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Colectar poblaciones de maíces nativos en el municipio de Concordia, Sinaloa.
2. Evaluar el comportamiento de poblaciones de maíces en el municipio de Concordia, Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 15 poblaciones de maíces nativos: Blando de Sonora (BLA), Breve San Juan (BSJ), Burrito (BUR), Cascaringa (CAS), Chapalote (CHA), Chilero (CHI), Chino (CHN), Colita (COL), Enano (ENA), Huesito (HUE), Jala (JAL), Pepitilla (PEP), Posolero (POS), Serrano Amarillo (SEA) y Zorrita (ZOR), colectadas en la zona serrana de la comunidad El Purgatorio del municipio de Concordia, localizado al sur del estado de Sinaloa, a 23° 17' 18" N, 106° 4' 3" W, y una altitud promedio de 478 m s n m; su clima predominante es cálido subhúmedo con lluvias principalmente en verano; presenta una temperatura media anual de 24°C (INEGI, 2016). En la parcela donde estaba ubicada cada población, se seleccionaron aleatoriamente 30 plantas con competencia completa. La caracterización de las 15 poblaciones se realizó en condiciones de temporal en un estudio observacional durante todo el ciclo del cultivo (junio del 2017 a diciembre 2017). Veinticuatro variables respuestas fueron evaluadas; éstas fueron divididas en cinco

categorías: a) variables vegetativas, en la que se incluyen, los caracteres altura de planta, altura de mazorca, número de hojas arriba de la mazorca y número de hojas debajo de la mazorca; b) variables de espiga, como longitud de espiga, longitud de pedúnculo de la espiga,

longitud de espiga central, longitud de la parte ramificada de la espiga y número de espiguillas; c) variables de mazorca, en las que se encuentran, longitud del pedúnculo de la mazorca, número de hileras, longitud de mazorca, peso y diámetro de mazorca, peso y diámetro de olote; d) variables de grano, como grosor, ancho y longitud de 10 granos, volumen y peso de 100 granos. Todas estas variables se tomaron de acuerdo a la metodología propuesta por CIMMYT/IBPGR (1991). La existencia o no de diferencias entre poblaciones en cada una de las variables estudiadas, se realizó mediante el modelo lineal general, donde se incluyó el efecto de las poblaciones y las medias de cada variable fueron comparadas con el método de Tukey con $\alpha \leq 0.05$ (SAS, Institute, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre las 15 poblaciones para la totalidad de variables estudiadas; sin embargo, solamente se presentan resultados para diez variables estudiada (Cuadro 1). Al analizar el comportamiento de la poblaciones en cada variable, se encontró que para la categoría vegetativa, respecto a altura de mazorca (Figura 1A), altura de planta (Figura 1B), número de hojas bajo la mazorca (Figura 1G) y longitud de mazorca (Figura 1E), la población Jala presentó los mayores promedios (199.96 cm, 377.62 cm, 10.46 hojas y 21.7 cm respectivamente); mientras que en la variable número de hojas arriba de la mazorca (Figura 1F), la población Chilero con 6.93 hojas fue la del promedio más alto. Al respecto, en las variables longitud del pedúnculo de la espiga (Figura 1C) y longitud de espiga central (Figura 1I), la población Colita presentó los mayores promedios (30.36 cm y 27.96 cm), y en la variable longitud de la parte ramificada de la espiga (Figura 1D), la población Serrano amarillo (16.57 cm), mientras que en número de espiguillas (Figura 1H) y ancho de grano (Figura 1J), la población Posolero (20.53 espiguillas y 142.8 mm) fue la de mayor promedio (Figura 1). Las diferencias entre las variables vegetativas, espiga, mazorca y grano evaluadas en las 15 poblaciones de maíces nativos de la comunidad El Purgatorio, Concordia, mostraron que en ellas se encuentra un acervo de genes que debe de ser conservado. Estos resultados están en concordancia con Hortelano *et al.* (2008), al encontrar diferencias significativas en el estudio de diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. Por otro lado, los resultados obtenidos, coinciden con los mostrados por Ángeles *et al.* (2010), al obtener diferencias significativas en la caracterización de maíces nativos en Molcaxac, Puebla. Asimismo, los resultados están en correspondencia con los realizados por Contreras *et al.* (2016), que caracterizaron morfológicamente a 81 materiales nativos de la Sierra Nororiental de Puebla y encontraron una alta variación entre las poblaciones estudiadas, respecto a los caracteres aquí mostrados.

Cuadro 1. Cuadrados medios para poblaciones y error, así como la significancia estadística ($P \leq 0.05$) para población en las diez variables evaluadas de los caracteres vegetativos, espiga, mazorca y grano en el estudio de caracterización agromorfológica en maíces nativos de Concordia.

Variable respuesta	Cuadrados medios
--------------------	------------------

	Población	Error
Caracteres vegetativos		
Altura de mazorca (cm)	16744**	534
Altura de la planta (cm)	29999**	918
Número de hojas arriba de la mazorca	6.55**	0.50
Número de hojas bajo la mazorca	6.558**	0.509
Caracteres de espiga		
Longitud del pedúnculo de la espiga (cm)	796.5**	24.6
Longitud de la parte ramificada de la espiga (cm)	90.1**	10.6
Longitud de espiga (cm)	194.1**	19.4
Número de espiguillas	168.3**	18.5
Caracteres de mazorca		
Longitud de mazorca	205.561**	6.299
Caracteres de grano		
Ancho de grano	7002.11**	103.24

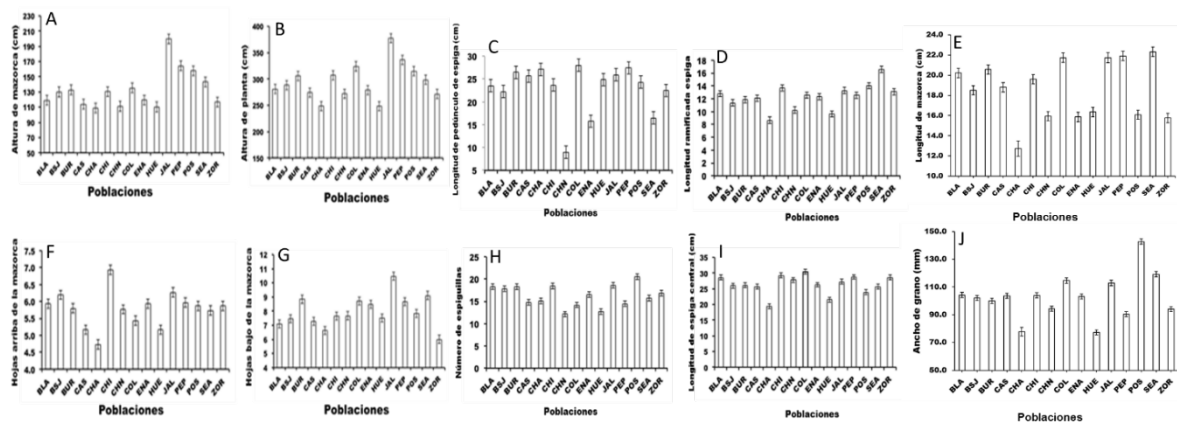


Figura 1. Comparación de medias de altura de mazorca (A), altura de planta (B), longitud del pedúnculo de la espiga (C), longitud ramificada de la espiga (D), longitud de mazorca (E), número de hojas arriba de la mazorca (F), número de hojas bajo la mazorca (G), número de espiguillas (H), longitud de la espiga central (I) y ancho de grano (J).

CONCLUSIONES

Tomando en consideración las poblaciones, las variables respuestas evaluadas y las limitantes en las que se realizó el estudio, se puede destacar que la caracterización agro-morfológica *in situ* confirma la existencia de variabilidad para dichas poblaciones respecto a las variables reportadas. La población más sobresaliente fue Jala, ya que ésta, presentó los mayores promedios en 6 de las 10 variables evaluadas y la menos sobresaliente fue Huesito, ya que presentó los promedios más bajos en 6 de las 10 variables evaluadas.

REFERENCIAS

Ángeles-Gaspar E., Ortiz-Torres E., López P., López-Romero G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. *Rev.Fitotec.Mex.*, 33 (4), 287-296.

CIMMYT/IBPGR. 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources. Rome. 3-28. http://archive-ecpgr.cgiar.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/104_Descriptors_for_maize.Descriptores_para_maiz.Descripteurs_pour_le_mais-cache=1415188810.pdf

Contreras-Molinas O., Gil-Muñoz A., López A., Reyes-López D, Guerrero-Rodriguez J. 2016 Caracterización Morfológica de Maíces Nativos de la Sierra Norienta de Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 17, 3633-3647.

Dzib-Aguilar L. A., Ortega-Paczka R., Segura-Correa J.C.2016.Conservación *in situ* y Mejoramiento Participativo de maíces criollos en la Península de Yucatán.*Tropica and Subtropical Agroecosystems* (19)51-59.

Hortelano S. R., Muños G., Santacruz V. A., Miranda C.S., Córdova T. L. 2008. Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agric. Téc. Méx.* 34 (2), 189-200.

INEGI.2016. Síntesis geográfica, nomenclátor y anexo cartográfico del estado de Sinaloa. Recuperado de <http://www.inegi.Org.mx> (Consulta, febrero 2018).

Kato Y.T. A., Mapes S.C., Mera O. L. M., Serratos H. J. A., Bye B. R. A.2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

Morales F. M. L. 2012. Caracterización fenotípica de 21 poblaciones de maíces nativos y/o criollos, en condiciones de temporal de Sinaloa Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa: 87-99.

Muñoz A., Cueva, J., Santacruz V. A., Olvera I., Taboada E. 2001. Diversidad del maíz en los nichos ecológicos y culturales de México. Universidad Autónoma Chapingo, Programa Nal. Etnobotánica. *Agroecosistemas* (5) 36.

Ortega P.R. 2003.La diversidad de maíz en México. En: Gustavo E. y Catherine M. (coordinadores). Sin maíz no hay país, CONACULTA, Dirección General de Culturas Populares, Museo de Culturas Populares, México. Recuperado de: <https://es.scribd.com/document/116425663/Sin-maiz-no-hay-pais-Gustavo-Esteva-y-Catherine-Marielle-Coordiadores>

Palacios V. O., Ortega C. A., Guerrero H. M. de J., Hernández C. J. de M., Peinado F. L. A. 2008. Proyecto FZ002. Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Componente 1: Diversidad y distribución actual de los maíces nativos Recuperado de: https://www.Biodiversidad.gob.mx/genes/pdf/proyecto/Anexo8_ResultadosProyectos/FZ002/Informe%20final/Maiz/Sinaloa/Informe%20Final_Sinaloa_FZ002.

Sánchez-Peña P., López-Valenzuela J.A., Lugo-Melchor R., Leyva O.J. F., Hernández-Verdugo S., Cauich-Pech S. O., González-Galindo R., Villarreal-Romero M., Parra-Terraza S., Corrales-Madrid J. L., Sánchez-Peña J., Quintero-Arce J. R., Garzón-Tiznado J. A., Palacios-Velarde O., Armenta-Soto J. L. 2008. Variación fenotípica de maíces nativos del estado de Sinaloa, México. Trabajo presentado en el XI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, Mexicali, Baja California.

SAS Institute. 2002. SAS/STAT User's Guide, Software version 9.0. Cary, N.C., USA.

Serratos H. J. A. 2009. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México: Greenpeace. Recuperado en: <http://www.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/report/2009/3/el-origen-y-la-diversidad-del.pdf>.

Serratos H. J. A. 2012. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México: Greenpeace, 30-31. Recuperado en: <http://m.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/report/2012/9/GPORIGENMAIZ%20final%20web.pdf>.

EFFECTO DEL TIPO DE SOMBRA Y DENSIDAD EN CORRAL SOBRE INDICADORES DE BIENESTAR DE BOVINOS EN FINALIZACIÓN INTENSIVA

Ana Mireya Romo Valdez

EFFECT OF THE TYPE OF SHADOW AND DENSITY OF PEN ON BEEF CATTLE WELL-BEING INDICATORS IN FEEDLOT

Ana Mireya Romo Valdez*, Francisco Gerardo Ríos Rincón, Beatriz Isabel Castro Pérez, Alfredo Estrada Angulo, Jesús José Portillo Loera y Jesús David Urías Estrada.

Maestría en Ciencias Agropecuarias; FMVZ-UAS. *correo e.ana.romo@uas.edu.mx

RESUMEN

En la producción intensiva de carne los bovinos están expuestos a condiciones climáticas que pueden ocasionar estrés por calor; para mitigar este efecto se ha implementado el uso de sombras y el manejo de la densidad por corral. Con el objetivo de valorar el efecto del tipo de sombra y densidad por corral en los indicadores de bienestar de bovinos en finalización intensiva, se realizó un estudio observacional prospectivo en la época cálida durante seis semanas. Las pautas conductuales, temperatura ambiental, humedad relativa e índice de temperatura y humedad (ITH), se registraron a las 8:00 h, 12:00 h y 16:00 h, en tres diseños de corral, con distinto espacio vital y sombra. Las variables conductuales fueron transformadas a tasas, al no presentar normalidad se calcularon rangos para realizar un ANDEVA. El promedio de la temperatura ambiental fue de 34.6 °C, humedad relativa de 67.3 %, e ITH de 87.3 unidades. Durante el periodo de observación el ganado bovino estuvo expuesto a condiciones de emergencia (ITH>84). En los tres diseños, el espacio vital fue insuficiente de acuerdo con las condiciones climáticas de la región y el peso vivo final de los bovinos. Las variables comiendo ($P<0.01$), bajo sombra ($P<0.01$) y de pie ($P<0.01$) presentaron interacción entre factores hora*diseño de corral; por efecto medioambiental a las 12:00 h la variable beber se encuentra inhibida ($P<0.01$), y el acicalamiento disminuido (21.6 vs. 14.7 vs. 11.3 %; $P<0.01$). Amenazas ($P=0.03$) y topetazos ($P=0.02$) presentaron efecto de interacción. Montas y signo de Flehmen disminuyen sensiblemente a las 12:00 y 16:00 h ($P\leq 0.01$), cuando el valor del ITH es mayor a 84 unidades. La menor tasa de jadeos se observó a las 8:00 h ($P<0.01$). Se concluye que el espacio vital es insuficiente para que los bovinos manifiesten su conducta innata; en los indicadores de bienestar animal influye el efecto medio ambiental en función de la hora del día.

ABSTRAC

In intensive beef production, cattle are exposed to climatic conditions that can cause heat stress; to mitigate this effect, the use of shadows and density management per pen has been implemented. With the objective of assessing the effect of shade type and density per pen on the indicators of animal welfare on beef cattle in feedlot, a prospective observational study was carried out in the warm season for six weeks. The behavioral guidelines, environmental temperature, relative humidity and temperature and humidity index (THI) were recorded at 8:00 am, 12:00 am and 4:00 pm, in three corral designs, with different living space and shade. The behavioral variables were transformed to rates, as they did not present normality, ranges were calculated to perform ANOVA. The average of the environmental temperature was of 34.6 °C, relative humidity of 67.3 %, and THI of 87.3 units. During the observation period, cattle were exposed to emergency conditions (ITH>84). In all three designs, the living space was insufficient

according to the climatic conditions of the region and the final live weight of the cattle. The variables eating ($P<0.01$), under shadow ($P<0.01$) and standing ($P<0.01$) presented interaction between factors hour*pen design; due to the environmental effect at 12:00 h, the variable drinking is inhibited ($P<0.01$), and the grooming decreased (21.6 vs. 14.7 vs. 11.3%, $P<0.01$). Threats ($P=0.03$) and bumps ($P=0.02$) presented an interaction effect. Mounts and Flehmen sign decrease significantly at 12:00 and 16:00 h ($P<0.01$), when the THI value is greater than 84 units. The lowest gasping rate was observed at 8:00 h ($P<0.01$). It is concluded that the vital space is insufficient for the cattle to manifest their innate behavior; in the animal welfare indicators, the environmental effect influences the time of day.

INTRODUCCIÓN

A nivel nacional la producción de carne de bovino en canal en el año 2018 fue de 1 980 204 t, donde Veracruz, Jalisco, San Luis Potosí, Sinaloa, Chiapas y Durango aportaron el 46.8% (SIAP, 2018a); en el estado de Sinaloa la producción fue de 106 289 t, equivalente al 5.4% de la producción nacional (SIAP, 2018b). En el mismo año se registró una temperatura media de 24.8 °C en el municipio de Culiacán, Sinaloa (24° 48' 00" N; 107° 23' 00" O), con máxima de 41.8 °C durante el periodo primavera-verano-otoño y mínima de 4.8 °C durante la temporada de invierno (CIAD, 2018). La temperatura termoneutral de los bovinos productores de carne puede ser muy variada; en bovinos jóvenes la zona de confort oscila desde los 7 hasta los 26 °C, mientras que en vacas maduras y bovinos pesados el rango es de -17 °C en invierno y 23 °C durante el verano, y se relaciona estrechamente con la condición corporal, estado nutricional, longitud y color del pelaje; llegando a tener dificultad para tolerar temperaturas superiores a los 27 °C, especialmente con valores de humedad relativa mayores a 40 % (Mader *et al.*, 2007). La disminución de los indicadores de producción animal en regiones cálidas se ve afectada por diversos factores, siendo el principal el estrés calórico generado por las altas temperaturas ambientales (Renaudeau *et al.*, 2012). El estrés calórico se presenta una vez que la temperatura ambiental excede la zona termoneutral de los bovinos lo cual les impide disipar el calor extra (Bernabucci *et al.*, 2010). Los bovinos son animales homeotermos debido a su capacidad para mantener su temperatura termoneutral modificando procesos fisiológicos y conductuales, cuando se encuentran en estrés calórico, ya sea de forma directa o indirecta (Renaudeau *et al.*, 2012); de forma directa los bovinos comienzan a sudar y tienden a aumentar su tasa de respiración hasta llegar al jadeo (Bernabucci *et al.*, 2010; Renaudeau *et al.*, 2012); mientras que de forma indirecta pueden disminuir el consumo de alimento para reducir la energía consumida y por consiguiente el calor metabólico (Renaudeau *et al.*, 2012), ésta es la causa principal de la disminución de la productividad, generando pérdidas económicas en la industria de la carne (Bernabucci *et al.*, 2010); si la temperatura corporal alcanza un nivel crítico, el animal puede morir debido a la falta de control sobre la regulación en este indicador fisiológico (Renaudeau *et al.*, 2012). En este sentido Gaughan y Mader (2014) observaron que el jadeo es un indicador de estrés calórico en bovinos, al respecto, Renaudeau *et al.* (2012) indicaron que el uso de sombras ayuda a mitigar el estrés calórico; de la misma manera estudios como los de Mitlöhner *et al.* (2001), Mitlöhner *et al.* (2002), Gaughan *et al.* (2010), Blaine y Nsahlai (2011) y Sullivan *et al.* (2011), conciden en que la disponibilidad de sombra ayuda al ganado a mitigar la carga de calor, así como a incrementar el consumo de materia seca (CMS), la ganancia diaria de peso (GDP), llegando a finalizar a los bovinos en menos tiempo y se obtienen canales más pesadas comparadas con las no sombreadas; en

cuanto a los indicadores de estrés calórico en los animales sombreados tienen una mejor respuesta fisiológica comparada con los no sombreados, representada a través de un bajo puntaje de jadeo. Sullivan *et al* (2011) refieren que la cantidad de sombra disponible no afecta el rendimiento productivo de los animales bajo sombra, pero mejora las condiciones de bienestar a partir de los 2 m² de sombra disponible por animal. Otro factor que puede influir en el bienestar animal es la densidad por corral de engorda, esto debido a que los bovinos pueden tener mayor libertad para expresar su comportamiento innato, tal como lo establece una de las “cinco libertades” de los animales, esto es libre de expresar su comportamiento natural (OIE, 2013). Ha *et al.* (2018) en un estudio realizado sobre la densidad en el corral de engorda de bovinos relacionaron que al aumentar el espacio por bovino, estos muestran mejor comportamiento relacionado con el bienestar. El objetivo del presente estudio será evaluar el efecto del tipo de sombra y la densidad de bovinos en el corral de engorda sobre el bienestar animal y respuesta productiva en finalización intensiva en el trópico seco.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el estado de Sinaloa se engordan 410 000 bovinos al año que corresponden a dos ciclos de engorda, esto representa una producción anual de 106 289 t de carne en canal; la mayor parte de los establecimientos dedicados a la engorda intensiva de bovinos solo consideran indicadores de tipo productivo, variables económicas y de rentabilidad de la empresa, asociados a indicadores como ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia, rendimiento en canal, etc. Sin embargo, al asociar las variables climáticas con los indicadores productivos existen otro tipo de indicadores que deben ser considerados de igual manera para valorar la producción de carne bovina; estos indicadores relacionados con el bienestar animal, incluyen el diseño del corral, disponibilidad de sombra, agua y alimento de manera que en conjunto se promueva una nueva forma de producir incorporando indicadores de bienestar animal en la producción pecuaria.

HIPÓTESIS

La disponibilidad de sombra y espacio vital favorece el bienestar animal y mejora la respuesta productiva de los bovinos en finalización intensiva en el trópico seco

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la disponibilidad de sombra y espacio vital en el corral de engorda sobre el bienestar animal y la respuesta productiva de bovinos en finalización.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar el efecto de la disponibilidad de sombra y espacio vital en los indicadores de bienestar animal de ganado bovino en finalización intensiva.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Localización del área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Producción Pecuaria (UPP) Agropecuaria JS SA de CV, ubicada en el km 18 de la carretera Internacional al sur de la ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, en el poblado Los Becos. La UPP se localiza entre las coordenadas 24° 38' 58" N y

107° 17' 10" O; con una altitud de 70 m sobre el nivel del mar y condiciones de trópico seco; la temperatura media anual es de 25°C, la temperatura mínima promedio es de 10.5°C en el mes de enero y las máximas promedio pueden ser mayores a 36°C durante los meses de mayo a julio. La humedad relativa promedio anual en la región es de 68 % con máximas de 98 % y mínimas de 14 % (CIAD, 2018).

2. Características de los corrales

Los bovinos se alojaron en tres tipos de diseño de corrales, que corresponden a la infraestructura disponible en la UPP: diseño 1 (etapa inicial), diseño 2 (etapa intermedia) y diseño 3 (etapa reciente); las características de los corrales se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características de los tipos de corrales de finalización intensiva en la UPP ubicada en el trópico seco.

Característica	Tipo de corral		
	Diseño 1	Diseño 2	Diseño 3
Superficie disponible, m ²	884	925	1335
Sombra disponible, m ²	135	152	192
Orientación de la sombra	N a S	N a S	E a O
Bebedero, m	6.10	6.10	6.10
Comedero, m	22	23	32

Diseño 1: Etapa inicial; Diseño 2: Etapa intermedia; Diseño 3: Etapa reciente.

3. Procedimiento

El estudio observacional descriptivo se llevó a cabo en dos periodos de seis semanas cada uno; en el primer periodo se desarrolló una fase preliminar del 10 al 20 de julio de 2018 y una fase observacional del 6 de agosto al 14 de septiembre de 2018; el segundo periodo se llevó a cabo del 21 de enero al 1 de marzo de 2019; que corresponden a la época de verano e invierno del hemisferio norte, respectivamente. Para el registro de la temperatura ambiental y la humedad relativa, se utilizaron termohigrometros digitales (Avaly Taylor, Modelo Número VA-EDT- 1-55^a, CDMX, México) dos por cada diseño de corrales objeto de estudio. El índice de calor y humedad (ITH) se calculó utilizando la fórmula: $ITH = [0.8 \times T] + [(HR \div 100) \times (T - 14.4)] + 46.4$ (Mader *et al*, 2006), donde T es la temperatura ambiente en grados Celsius y HR es la humedad relativa en porcentaje.

En los periodos de observación se realizaron visitas diarias de lunes a viernes a cuatro corrales por cada sitio de finalización elegidos por conveniencia (seleccionados de acuerdo a la etapa de finalización y sexo de los bovinos) identificados mediante la siguiente nomenclatura, con base en las etapas de crecimiento de la infraestructura de la UPP: diseño 1, diseño 2 y diseño 3. El orden tanto de los diseños como de los corrales observados por día fueron aleatorizados, de manera que se observaran seis corrales al día, dos de cada diseño. Una semana antes de iniciar cada periodo se llevó a cabo una visita de reconocimiento, con el propósito de registrar las características generales del ganado: número de bovinos alojados por corral, género, predominancia de tipo racial, así como las condiciones generales de los alojamientos: número y ubicación de corral, área de corral, dimensiones, disponibilidad y tipo de sombra, disponibilidad y tipo de comedero, disponibilidad y tipo de bebedero. Posteriormente, en cada visita se aplicó una guía de verificación y se registraron las pautas conductuales del ganado bovino en los

corrales de finalización durante tres horarios al día (8:00 h, 12:00 h y 16:00 h); mediante la guía de verificación se registraron los indicadores relacionados con el bienestar animal en el corral de finalización: bovinos comiendo, bovinos en rumia, descanso, bebiedo, vocalizaciones, montas, amenazas, acicalamientos, topetazos, signo de Flehmen, jadeando y bajo sombra (Marti *et al.*, 2015).

4. Análisis estadístico

Las variables climáticas (temperatura, humedad relativa y valor de ITH) son presentadas con la media, valor mínimo y máximo por semana y general. Para las variables conductuales la unidad de observación fue cada corral, y los valores registrados se convirtieron a tasas utilizando la fórmula propuesta por Daniel (2002)

$$\left(\frac{a}{a+b}\right)k$$

Donde,

a = la frecuencia con la cual se ha presentado un evento durante algún periodo específico.

$a + b$ = el número de bovinos expuestos al riesgo del evento durante el mismo periodo.

k = algún número, como 10, 100, 1 000, 10 000 o 100 000.

Se utilizó el procedimiento UNIVARIATE opción NORMAL de SAS (SAS, 2002) para conocer la aproximación a la distribución normal de las tasas con la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (K-S). Se realizó transformación arcoseno cuadrado, una vez transformadas las tasas se utilizó nuevamente el procedimiento UNIVARIATE opción NORMAL de SAS (SAS, 2002) para saber si se logró una aproximación a la distribución normal de las tasas transformadas mediante la prueba de normalidad de K-S. Al no obtener normalidad en las tasas transformadas se realizó el procedimiento descrito por Herrera y Barreras (2005), empleando el procedimiento RANK (SAS, 2002), para calcular rangos, y a estos aplicarles análisis de la varianza con el procedimiento GLM, declarando el modelo lineal general:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + H_j + CH_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde,

Y_{ijk} = Rangos de las tasa para la variable conductual.

μ = La media general.

C_i = El efecto fijo del i-ésimo diseño del corral.

H_j = El efecto fijo de la j-ésima hora de observación.

CH_{ij} = El efecto de la interacción de primer orden del i-ésimo diseño del corral y la j-ésima hora de observación.

ε_{ijk} = El error aleatorio.

La comparación de medias para la el diseño de corral y la hora se utilizó la prueba de Dunn (Bonferroni) (SAS, 2002); donde el valor de alfa máximo para aceptar diferencia estadística fue de 0.05. Los resultados en los cuadros se presentan con la mediana y error estándar de las tasas. Se presenta gráfica de efectos principales para el número de bovinos jadeando elaborada en Minitab 16.0 (Minitab, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 2 se presentan los promedios de la temperatura ambiental, humedad relativa, e índice de calor y humedad durante la época cálida. Se observa que los valores promedio de la temperatura ambiental fue de 34.6 °C, la humedad relativa de 67.3% e ITH de 87.3 unidades. Este último valor indica que durante el periodo observacional los bovinos estuvieron la categoría de emergencia; de acuerdo con Arias *et al.* (2008) y Morais *et al.* (2008) el organismo animal establece respuestas fisiológicas y conductuales para afrontar las condiciones medio ambientales adversas; una de las primeras respuestas del bovino es aumentar la sudoración y la tasa de respiración hasta llegar al jadeo, mediante las cuales libera calor a través de la evaporación, sin embargo, el bovino también utiliza otros mecanismos como la convección, conducción y radiación para liberar calor metabólico extra.

Cuadro 2. Promedio de la temperatura ambiental, humedad relativa e índice de calor y humedad durante la época cálida.

Semana ²	Temperatura °C			Humedad relativa, %			ITH ¹		
	Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.	Media
1	25.0	40.6	33.4	50	85	66.8	75	98	85.4
2	27.6	41.2	34.5	51	81	66.0	79	96	87.1
3	26.6	43.1	35.2	48	81	64.6	77	99	87.6
4	23.9	45.8	33.9	52	85	66.3	74	101	86.1
5	24.4	43.1	35.2	54	93	71.6	75	100	89.0
6	27.1	46.3	35.3	60	81	69.3	78	103	88.9
General ³	23.9	46.3	34.6	48	93	67.3	74	103	87.3

ITH= Índice de Temperatura y Humedad; Mín.= Mínimo; Máx.= Máximo.

¹ITH= $[0.8 \times \text{temperatura ambiente}] + [(\% \text{ de humedad relativa } / 100) \times (\text{temperatura ambiente} - 14.4)] + 46.4$ (Mader *et al.*, 2006); normal THI < 74; alerta 75 > THI < 78; peligro 79 > THI < 83; y emergencia THI > 84. ²Para cada semana, n=90. ³General, n=540.

En el cuadro 3 se presentan los resultados correspondientes a la disponibilidad de espacio vital de bovinos finalizados intensivamente durante la época cálida; el bienestar animal considera de gran importancia el espacio vital puesto que de este depende que los bovinos puedan expresar su comportamiento innato (Gasques, 2008), cumpliendo así una de las cinco libertades (OIE, 2013). En el presente estudio se determinó que los bovinos del diseño 3 son lo que presentan mayor superficie disponible en el corral de engorda, sin embargo, de acuerdo con SAGARPA (2014) el espacio no es del todo suficiente para las condiciones climáticas de la zona, por otro lado Lagos *et al.* (2014) mencionan que de acuerdo al peso vivo de los bovinos finalizados, el espacio es inferior al recomendado en 34.3% en el diseño 1, 34.5% en el diseño 2 y 24.2% en

el diseño 3; el espacio recomendado para bovinos de 400 kg de peso vivo o más, es de 20 m² de espacio vital.

Cuadro 3. Disponibilidad de espacio vital en bovinos finalizados en corral de engorda intensiva durante la época cálida.

Diseño del corral	n	Peso final (kg)	Superficie (m ²)	Espacio vital (m ²)	Diferencia (m ²)
Diseño 1	67	525.5	884	13.14	-6.86
Diseño 2	71	509.3	925	13.11	-6.89
Diseño 3	89	513.3	1335	15.16	-4.84

Diseño 1: Etapa inicial; Diseño 2: Etapa intermedia; Diseño 3: Etapa reciente.

En el cuadro 4 se presentan los resultados de los indicadores habituales, sociales y agonistas relacionados al bienestar de los bovinos productores de carne en finalización intensiva. Se observa que con base al valor de ITH, a las 8:00 h el ganado bovino se encuentra en la categoría de peligro ($79 > ITH < 83$), mientras que a las 12:00 y 16:00 h el ganado bovino se encontró en la categoría de emergencia ($ITH > 84$; $P < 0.01$); el valor promedio del ITH en los tres diseños mostró que el ganado bovino estuvo en estado de emergencia, sin embargo, debido a la ubicación de los corrales en la UPP el valor del ITH fue menor en el diseño 3 (85.6 vs. 87.8; $P < 0.01$), esto puede deberse a que los corrales del diseño 3 se encuentran ubicados en la parte más alta de la UPP, por lo tanto el área de ventilación natural es mayor y en consecuencia la disipación del calor.

Aunque en el cálculo del valor del ITH normalmente utilizado no contiene otras variables climáticas como la velocidad del viento, la carga solar, factores de mitigación como la utilización de sombras y las características individuales de cada bovino (Gaughan *et al.*, 2008), este indicador ha sido utilizado durante más de cinco décadas (desde que fue desarrollado por Thorn en 1959) como una forma de medir el grado de estrés por calor al cual se encuentran sometidos los animales.

En relación con los indicadores habituales, se observó efecto significativo de la interacción de hora*diseño de corral en la variable bovinos comiendo ($P < 0.01$), de manera general se observó que la tasa de esta variable disminuyó a las 12:00 h ($P < 0.01$), sin embargo, el diseño 2 presentó menor tasas que los diseños 1 y 3 en los horarios de 8:00 y 16:00 h ($P < 0.01$). En la variable bovinos bebiendo se observó que a las 12:00 h con un ITH promedio de 89.6 unidades, ubicado en la categoría emergencia (Mader *et al.*, 2006) los bovinos disminuyen completamente esta actividad ($P < 0.01$), lo anterior coincide con lo observado por Pereyra *et al.* (2010) quienes mencionan que al encontrarse los bovinos en estado de emergencia disminuyen actividades habituales en las que se incluye beber agua, comer y caminar. La variable bovinos bajo sombra presentó diferencia estadística en la interacción, de manera general la menor cantidad de bovinos bajo sombra se observó a las 8:00 h (22.5 %), y la mayor cantidad se observó a las 12:00 h (70 %; $P < 0.01$); sin embargo, en el diseño 3 a las 16:00 h no se observó la misma magnitud en los diseños 1 y 2. Se presentó interacción para las variables bovinos echados ($P = 0.04$) y bovinos de pie ($P < 0.01$); en el caso de los bovinos de pie se encontró que por

horario el valor de esta variable disminuye a partir de las 8:00 h, donde se presenta el mayor número de bovinos de pie (73.2 %) hasta las 16:00 h con 47 %; en el diseño 3 esta variable disminuye en un 15% a las 12:00 h en comparación con los otros diseños, siendo los bovinos echados su complemento.

En la variable bovinos en rumia, la menor expresión ocurrió a las 8:00 h (3 %; $P < 0.01$), debido al hecho de que los bovinos en ese horario consumen alimento y tienden a desarrollar otras actividades, disminuyendo su inversión de tiempo para rumiar.

De manera general, a las 12:00 y 16:00 h se observó una reducción del acicalamiento como expresión de interacción social; en el presente estudio dicha expresión mostró diferencias significativas en las tasas de

Cuadro 4. Indicadores habituales, sociales y agonistas del comportamiento conductual de bovinos productores de carne en finalización intensiva durante la época cálida.

H	Indicadores habituales ²							Indicador social ²	Indicadores agonistas ²				
	ITH* ₃	Comen ₃	Beben ₄	Bajo sombra ₃	Echados ₃	De pie ₃	En rumia ₃	Acicala n ₃	Montas ₄	Amenazas ₃	Flehmen ₃	Topetazo _{s4}	
8	83.7 _b	7.1 ^a	13.7 ^a	22.5 ^c	26.7 ^c	73.2 ^a	3.0 ^b	21.6 ^a	12.9 ^a	1.4	2.8 ^a	12.2 ^a	
12	89.6 _a	0.0 ^b	0.0 ^b	70.0 ^a	38.6 ^b	60.9 ^b	5.6 ^a	11.3 ^c	0.0 ^b	1.4	1.2 ^b	0.0 ^b	
16	88.6 _a	7.2 ^a	12.3 ^a	47.1 ^b	53.0 ^a	47.0 ^c	4.4 ^a	14.7 ^b	0.0 ^c	1.4	1.4 ^b	0.0 ^b	
DCO													
D1	88.0 _a	5.6 ^a	13.8	43.4	36.6	63.4	4.1	15.3 ^b	0.0	1.4 ^a	1.4 ^a	0.0 ^{ac}	
D2	87.6 _a	2.9 ^b	13.7	47.2	39.4	60.6	4.2	18.3 ^a	0.0	1.4 ^a	1.5 ^a	0.0 ^a	
D3	85.6 _b	4.6 ^a	10.2	46.1	43.9	55.6	5.1	13.4 ^b	0.0	1.1 ^b	1.2 ^b	0.0 ^{bc}	
H	DCO												
8	D1	84.2	10.9	16.9	21.4	17.7	82.3	2.8	20.1	14.1	2.7	3.5	13.7

	D2	84.7	4.9	13.9	32.6	29.7	70.3	2.9	23.2	14.5	1.4	2.9	13.7
	D3	80.5	9.3	12.1	17.1	28.8	70.6	3.7	20.9	10.1	1.1	2.4	0.0
12	D1	90.8	0.0	0.0	70.2	32.0	68.1	5.5	9.9	0.0	1.4	1.4	0.0
	D2	89.9	0.0	0.0	73.6	34.5	65.5	4.2	14.1	0.0	1.4	1.4	0.0
	D3	87.0	1.1	0.0	60.0	47.2	50.6	6.2	10.1	0.0	1.2	1.1	0.0
16	D1	89.0	9.6	13.7	41.0	53.2	46.8	4.2	14.3	0.0	1.4	1.4	0.0
	D2	88.4	5.6	13.7	46.4	53.6	46.4	4.4	18.3	0.0	1.4	1.5	0.0
	D3	88.1	6.9	11.1	60.4	50.6	49.5	4.7	12.4	0.0	1.1	1.0	0.0
							Probabilidad						
FV													
Hora	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.33	0.01	0.01
DCO	0.01	0.01	0.10	0.07	0.15	0.07	0.09	0.01	0.64	0.01	0.01	0.01	0.01
Hora x DCO	0.07	0.01	0.10	0.01	0.04	0.01	0.18	0.25	0.49	0.03	0.48	0.02	

ITH: Índice de Temperatura y Humedad; H: Hora; DCO: Diseño del Corral; D1: Diseño 1 (etapa inicial); D2: Diseño 2 (etapa intermedia); D3: Diseño 3 (etapa reciente).

¹Medias, error estándar de las medias conjunto para hora (0.40, n=180); para diseño de corral (0.37, n=180); para interacción (0.64, n=60). ²Medianas; para hora y diseño de corral n=180, para interacción n=60. ³Taza x100. ⁴Taza x1000.

^{abc} Literales diferentes en la misma columna dentro de hora o diseño de corral indican diferencia estadística (P≤0.05).

cada horario (21.6 vs. 11.3 vs. 14.7; $P < 0.01$). Esto en función del aspecto ambiental, puesto que a mayor valor de ITH dentro del rango de emergencia se observó menor tasa de acicalamientos. Entre los diseños de corral el mayor porcentaje de acicalamientos se registró en el diseño 2 debido a una mayor interacción social entre los individuos alojados en estos corrales, debido probablemente al temperamento de los bovinos.

En el presente trabajo se observó interacción hora*diseño de corral para las variables amenazas y topetazos; en el diseño 1 a las 8:00 h se mostró la mayor expresión de amenazas (2.7 vs. 1.25 %; $P = 0.03$) y la mayor tasa de topetazos ocurrió a las 8:00 h en el diseño 1 (1.75 vs. 1.0 x 1000; $P = 0.02$). En montas y signo de Flehmen, las expresiones disminuyen sensiblemente a las 12:00 y 16:00 h ($P < 0.01$), cuando los valores de ITH son mayores a 84 unidades; el signo de Flehmen disminuyó en los corrales del diseño 3 ($P < 0.01$), lo anterior se puede atribuir a que en estos corrales los bovinos disponen mayor espacio vital (cuadro 3); Ha *et al.* (2018) afirman que al aumentar el espacio vital las conductas agonistas disminuyen. La conducta agonista es un comportamiento social relacionado al conflicto entre miembros de la misma o diferente especie; la conducta agonista en bovinos se clasifica en aproximación, amenaza y contacto físico, y puede ser pasiva o activa. Una aproximación pasiva suele denominarse encuentro casual y va de una ligera amenaza, a una sumisión inmediata por parte del contrario y estas acciones suelen ser muy rápidas y sutiles (Marín y Cabeza, 2010). La monta entre machos es un comportamiento homosexual de distintas especies de rumiantes, sin embargo, suele ocurrir en ambos sexos, de distintas edades, aunque en hembras se asocia al celo; la homosexualidad en rumiantes machos puede deberse a distintos factores como la dominancia social, la edad o el ambiente social durante el desarrollo (Freita *et al.*, 2014). Conductas como acercamientos, amenazas, luchas y huidas, presentadas de forma agresiva o sumisa, son consideradas conductas agonistas en los bovinos, con el fin de establecer dominancia sobre animales con un nivel de jerarquía menor, esta conducta puede ser clasificada como amenaza y contacto físico (Marín y Cabeza, 2010).

En la figura 1 se muestra la frecuencia de jadeos en bovinos productores de carne en finalización con respecto a la hora del día en la época cálida.

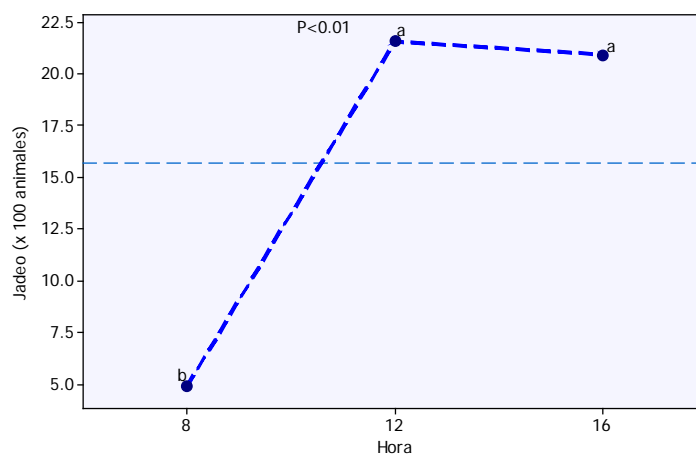


Figura 3. Tasa de Jadeos de bovinos en finalización intensiva en el trópico seco en la época cálida. Según la hora del día. ^{abc} Literales diferentes indican diferencia estadística ($P \leq 0.05$).

Se observa que la mayor frecuencia de jadeos se registró a las 12:00 y 16:00 h ($P < 0.01$), a estas horas el valor de ITH supera las 84 unidades. Al elevarse el ITH dentro de la categoría de emergencia, el mecanismo de enfriamiento por evaporación se intensifica exponencialmente debido al aumento de las cargas de calor interna y externa; se activan los mecanismos termo regulatorios fisiológicos y conductuales, disminuyendo el consumo de alimento y la secreción hormonal termogénica para reducir la carga de calor interna y con ello mantener una temperatura homogénea y constante; por último, la temperatura corporal del bovino aumenta repentinamente provocando fuertes jadeos y máxima sudoración para disipar el calor, debido a esto la producción de calor se eleva por consecuencia a la aceleración de los procesos bioquímicos y la energía requerida por los jadeos haciendo un dialelo, entrando en una fase aguda de estrés calórico y conduciendo al bovino a la muerte por hipertermia (Silanikove, 2000; Arias *et al.*, 2008; Roca, 2011).

CONCLUSIONES

Se concluye que el espacio vital es insuficiente para que los bovinos manifiesten su conducta innata; en los indicadores de bienestar animal influye el efecto medio ambiental en función de la hora del día.

LITERATURA CITADA

- Arias R. A., Mader T. L., Escobar P. C. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. Arch. Med. Vet. 40:7-22. ISSN: 0301-732X DOI: 10.4067/S0301-732X2008000100002
- Bernabucci U., Lacetera N., Baumgard L. H., Rhoads R. P., Ronchi B., Nardone A. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. Animal 4(7):1167-1183. ISSN: 1751-7311. DOI: 10.1017/S175173111000090X
- Blaine K. L., Nsahlai I. V. 2011. The effects of shade on performance, carcass classes and behavior of heat-stressed feedlot cattle at the finisher phase. Trop Anim Health Prod 43:609-615. ISSN: 0049-4747. DOI: 10.1007/s11250-010-9740-x
- CIAD. 2018. Sistema estadístico del clima automatizado de Sinaloa. <http://187.141.135.166/CIAD/DatosPorMes.aspx> (Consulta, enero 2018).
- Daniel W.W. 2002. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. Editorial Limusa S.A. de C.V. México, D.F. pp: 737-752. ISBN: 968-18-6164-7.
- Freita A, Lacuesta L, Ungerfeld R. 2014. Comportamiento homosexual en rumiantes machos. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. 5(1):91-106. ISSN: 2007-1124. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/3218/2643>
- Gasque G. R. 2008. Enciclopedia bovina. Editorial Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 437p. ISBN: 978-970-32-4359-4.
- Gaughan JB, Mader TL, Holt SM, Lisle A. 2008. A new heat index for feedlot cattle. J. Anim. Sci. 86(1):226-234. ISSN: 0021-8812. DOI: 10.2527/jas.2007-0305
- Gaughan J. B., Bonner S., Loxton I., Mader T. L., Lisle A., Lawrence R. 2010. Effect of shade on body temperature and performance of feedlot steers. J. Anim. Sci. 88:4056-4067. ISSN: 0021-8812. DOI:10.2527/jas.2010-2987
- Gaughan J. B., Mader T. L. 2014. Body temperature and respiratory dynamics in un-shade beef cattle. Int J Biometeorol 58:1443-1450. ISSN: 0020-7128. DOI 10.1007/s00484-013-0746-8

Ha J. J., Yang K. L., Oh D. Y., Yi J. K., Kim J. J. 2018. Rearing characteristics of fattening hanwoo steers managed in different stocking densities (R). *Asian-Australas J Anim Sci* 31:1714-1720. ISSN: 1011-2367. DOI: doi.org/10.5713/ajas.17.0451

Herrera H.J.G. y Barreras S.A. 2005. Manual de Procedimientos: Análisis Estadístico de Experimentos Pecuarios (Utilizando el Programa SAS). Segunda Edición. Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. México. Pp. 215. ISBN: 968-839-300-2.

Lagos G. H., González G. F. J., Castillo R. F. 2014. Paquete tecnológico para la engorda de ganado bovino en corral. <http://biblioteca.inifap.gob.mx> (Consulta, enero 2018).

Mader T.L., Davis M.S., Brown-Brandl T. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J Anim Sci* 84:712-719. ISSN: 0021-8812. <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1622&context=animalscifacpub>

Mader T., Griffin D., Hahn L. 2007. Managing feedlot heat stress. Institute of Agriculture and Natural Resources. University of Nebraska-Lincoln. <http://extensionpubs.unl.edu/>

Marín A, Cabeza NK. 2010. Importancia de la conducta animal para el manejo productivo de la fauna silvestre y doméstica. *Rev. Col. Cienc. Anim.* 2(1):175-214. ISSN: 2027-4297. DOI: 10.24188/recia.v2.n1.2010.341

Marti S., Devant M., Amatayakul-Chantler S., Jackson J.A., Lopez E., Janzen E.D., Schwartzkopf-Genswein K.S. 2015. Effect of anti-gonadotropin-releasing factor vaccine and band castration on indicators of welfare in beef cattle. *J Anim Sci* 93:1581-1591. ISSN: 0021-8812. DOI: 10.2527/jas2014-8346

Minitab, I. N. C. 2000. MINITAB statistical software. Minitab Release. Ver. 13.

Miltlöhner F. M., Morrow J. L., Dailey J. W., Wilson S. C., Galyean M. L., Miller M. F., McGlone J. J. 2001. Shade and water misting effects on behavior, physiology, performance, and carcass traits of heat-stressed feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 79:2327-2335. ISSN: 0021-8812. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11583419>

Miltlöhner F. M., Galyean M. L., McGlone J. J. 2002. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. *J. Anim. Sci.* 80:2043-2050. ISSN: 0021-8812. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12211371>

Morais D. A. E. F., Maia A. S. C., Silva R. G., Vasconcelos A. M., Oliveira L. P., Guilhermino M. M. 2008. Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. *R. Bras. Zootec.* 37(3): 538-545. ISSN: 1516-3598 DOI: 10.1590/S1516-35982008000300020

OIE. 2013. Bienestar animal: Introducción a las recomendaciones para el bienestar de los animales. www.oie.int (Consulta, enero 2018).

Pereyra A. V. G., Maldonado M. V., Catracchia C. G., Herrero M. A., Flores M. C., Mazzini M. 2010. Influence of water temperature and heat stress on drinking water intake in dairy cows. *Chil. J. Agric. Res.* 70(2):328-336. ISSN 0718-5839. DOI: 10.4067/S0718-58392010000200017

Renaudeau D., Collin A., Yahav S., Basilio V., Gourdine J. L., Collier R. J. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal* 6(5):707-728. ISSN: 1751-7311. DOI:10.1017/S1751731111002448

Roca C.A.J. 2011. Efecto del estrés calórico en el bienestar animal, una revisión en Tiempo de Cambio Climático. *Espamciencia.* 2(1):15-25. ISSN: 1390-8103. <http://investigacion.esпам.edu.ec/index.php/Revista/article/view/147>

SAS Inc. 2002. The SAS System for Windows 9.0. Cary, NC, USA.

SAGARPA. 2014. Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en la Producción de Carne de Ganado Bovino en Confinamiento. <http://oncesega.org.mx/archivos/MANUAL%20DE%20BPP%20EN%20LA%20PRODUCCION%20DE%20CARNE%20DE%20GANADO%20BOVINO%20EN%20CONFINAMIENTO.pdf>

SIAP. 2018a. Resumen nacional. <http://infosiap.siap.gob.mx/> (Consulta, enero 2018).

SIAP. 2018b. Cierre de la producción pecuaria por estado. <http://infosiap.siap.gob.mx/> (Consulta, enero 2019).

Silanikove N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 67(1):1-18. ISSN: 0301-6226. DOI: 10.1016/S0301-6226(00)00162-7

Sullivan M. L., Cawdell-Smith A. J., Mader T. L., Gaughan J. B. 2011. Effect of shade área on performance and welfare of short-fed feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 89:2911-2925. ISSN: 0021-8812. DOI:10.2527/jas.2010-3152

ESTRUCTURA FORESTAL Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DEL MANGLAR EN EL CANAL DE CUAUTLA, RESERVA DE LA BIÓSFERA MARISMAS NACIONALES, NAYARIT

Brenda Elicet Giles Miranda^{1,2}, Mercedes Marlenne Manzano Sarabia², Jorge López Portillo³, Joanna Acosta Velázquez⁴, Francisco Flores Cárdenas².

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. brenda.facimar@uas.edu.mx

²Laboratorio de Ecosistemas y Variabilidad Climática, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

⁴Fondo Noroeste, A.C.

³Instituto de Ecología A.C

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de manglar son considerados humedales altamente productivos, debido a los diversos servicios ambientales que proveen (CONABIO, 2009). Son importantes por su extensión, diversidad, composición y estructura (Oviedo y Labrada, 2006), así como por su rol en el ciclo del carbono, ya que son sumideros de CO₂ y fuentes de carbono oceánico (Duke *et al.*, 2007), además de funcionar como estabilizadores climáticos (Mitsch y Gosselink, 2000). Los manglares son hábitat para diferentes especies (Field, 1996), sustentan una gran diversidad de recursos pesqueros, puesto que sirven como zonas de anidación, alimentación, refugio, crecimiento y reproducción. Asimismo, fungen como una barrera natural, protegiendo a las zonas costeras de huracanes y tormentas tropicales (Field, 1996; Dahdouh-Guebas *et al.*, 2005; Alongi, 2008; (Berlanga-Robles y Ruiz-Luna, 2007). También se les ha nombrado como los “riñones del planeta” por su función filtradora, ya que son capaces de procesar exceso de nutrientes, absorbiendo sales y productos químicos utilizados en la agricultura. Adicionalmente, los manglares son trampas de sedimentos y brindan estabilidad a la línea de costa (CONAFOR, 2009).

En México, los ecosistemas de manglar se distribuyen a lo largo de las costas del Océano Pacífico, Golfo de México y Mar Caribe, específicamente en diecisiete entidades federativas (CONABIO, 2013) y predominan cuatro especies: el mangle rojo (*Rhizophora mangle*), el mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), el mangle negro (*Avicennia germinans*) y el mangle botoncillo (*Conocarpus erectus*) (CONABIO, 2009), mismos que se encuentran bajo la categoría de amenazadas por la normatividad vigente (Norma NOM-059-SEMARNAT-2010).

Por su gran relevancia en términos de riqueza biológica y sus características ecológicas, el complejo lagunar de Marismas Nacionales fue decretado como Área Natural Protegida (ANP), bajo la categoría de Reserva de la Biósfera en el año 2010, con una superficie total de 133, 854 ha, de las cuales 67,096 ha son de extensión de manglar, convirtiendo a Nayarit en la quinta entidad federativa con mayor cobertura. Asimismo, pertenece a la convención Ramsar, la cual tiene como objetivo promover políticas ambientales y acciones para el manejo efectivo y conservación de humedales, así como promover la colaboración internacional (CONANP, 2008).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas décadas estos ecosistemas han estado sujetos a fuertes presiones y alteraciones derivadas de actividades humanas principalmente de orden extractivo, situación que indica una falta de valoración e importancia, siendo generalmente observada una degradación acelerada y sistemática (De Alba y Reyes, 1998). En este sentido, resulta prioritario proponer y desarrollar esfuerzos de investigación que brinden información actualizada y permitan entender las variables e impactos que vulneran o alteran composición, extensión y cobertura del bosque de manglar en la zona del canal de Cuautla, Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales, Nayarit. Los resultados derivados de la presente investigación coadyuvarán con el Sistema de Monitoreo de los Manglares de México, el cual fue establecido por la CONABIO desde 2005, y que tiene como misión realizar un monitoreo de largo plazo de los manglares mexicanos para determinar su estado y tendencias de cambio, amenazas, para definir acciones para su conservación. Además, los resultados de esta investigación servirán de referencia a grupos de los diferentes sectores gubernamentales y de la sociedad civil vinculados a la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales en la toma de decisiones con respecto de la conservación, aprovechamiento y manejo de sus recursos.

HIPÓTESIS

Los servicios ecosistémicos y la estructura forestal de los manglares del canal de Cuautla en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales se encuentran más perturbados en la zona de la boca.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la estructura forestal de los manglares del canal de Cuautla en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales, así como caracterizar los servicios ecosistémicos que ofrece.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar cuál es la estructura forestal de los manglares en la zona del canal de Cuautla, Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales.
2. Caracterizar los servicios de provisión, regulación, culturales y de soporte que provee el canal de Cuautla en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales.
3. Cuantificar el carbono azul, nitrógeno y fósforo total en suelos de cuatro parcelas de monitoreo.
4. Reconocer las diferentes actividades económicas que se realizan en el canal de Cuautla en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales.
5. Evaluar las principales amenazas que presentan los servicios ecosistémicos en el canal de Cuautla en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El canal de Cuautla se encuentra localizado en la comunidad del Palmar de Cuautla del municipio de Santiago Ixcuintla, en el Estado de Nayarit, México, dentro de la reserva de la Biósfera Marismas Nacionales, Nayarit, decretada como tal el 12 de mayo de 2010, con una superficie total de 133, 854 ha (DOF, 2010). Posee una extensión de ~ 67,096 ha de manglares, de las cuales 6, 016 ha se encuentran en estado perturbado (Valderrama-Landeros *et al.*, 2017). Presenta un tipo de clima semi-cálido y sub-húmedo, con una temperatura media anual de 26 a 28°C, una máxima promedio anual de 30 a 34°C, y una precipitación anual de 300–1,000 mm, con una humedad relativa anual mayor de 75%. Presenta suelos con acumulación de sales solubles con alto contenido de sodio y suelos corrosivos.

Estructura forestal

Para el estudio de estructura forestal y caracterización ambiental del manglar en Marismas Nacionales Nayarit, se analizarán cuatro unidades permanentes de muestreo de 20 x 20 m (Figura 2), siguiendo la metodología de Valdez-Hernández (2002) para el estudio de unidades de muestreo permanentes. La caracterización por tipos de manglar presentes en los sitios de estudio con base en las características fisonómicas se realizará de acuerdo con Lugo y Snedaker (1974).

Diámetro a la altura del pecho (DAP₁₃₀) Esta variable se medirá a una altura de 130 cm (DAP₁₃₀) de los tallos de los árboles con una cinta diamétrica.

Altura total del arbolado. Se medirá con una cinta métrica y/o hipsómetro Nikon Forestry 550.

Altura de la raíz. Este atributo será medido solamente en *Rhizophora mangle*.

Altura fuste limpio. Distancia que existe a partir de la base del árbol hasta la base de la copa, es decir el fuste libre de ramas.

Área basal (AB). Representa el área en m² que ocupa la sección transversal del conjunto de árboles de **un rodal que se distribuyen en una hectárea.**

Densidad (fustes/ha). Número total de fustes/ área total muestreada X 10,000

Índice de Valor de importancia. Se calcula a partir de la sumatoria del porcentaje de densidad, frecuencia y dominancia.

Índice de Valor de Importancia = Densidad relativa + Frecuencia relativa + Dominancia relativa de la especie i, donde:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{Densidad de la especie } i}{\text{Densidad total}} \times 100$$

$$\text{Frecuencia relativa} = \frac{\text{Frecuencia de especies } i}{\sum \text{Frecuencia de todas las especies}} \times 100$$

$$\text{Dominancia relativa} = \frac{\text{Área basal de la especie } i}{\sum \text{Área basal de todas las especies}} \times 100$$

Índice de complejidad de Holdridge (ICH). Este índice se utiliza para determinar el grado de desarrollo estructural de los bosques de manglar y se calcula con la ecuación:

$$\text{ICH} = (d)(a)(h)(s) / 10000$$

d= Número de individuos ha⁻¹

s= Número de especies

h= Altura del rodal (m)

a= Área basal ($m^2 ha^{-1}$)

Diámetro promedio de la copa. Es una medición importante que proporciona información sobre la densidad de árboles por área, aunque la medición se dificulta por la irregularidad, altura y mezcla de la copa de los árboles.

Clase de corona. El tipo de corona se clasificará como dominante, codominante, intermedia, suprimida o en su defecto, se indicará si se trata de individuos tipo arbustivo.

Frecuencia de tallas. Se determinará a partir de la regla de Sturges (Zar, 1996): $K = 1 + 3.322 (\log_{10} \cdot n)$. Para determinar la amplitud de la clase: $C = I / K$ donde: $I =$ Intervalo de clase = (Valor mayor – valor menor) y $n =$ número de individuos.

Regeneración potencial. Para determinar la regeneración potencial, se seguirá el protocolo de López-Portillo (2012).

Densidad. Se contarán todos los organismos (plántulas y juveniles) presentes dentro de los cuadrantes y serán expresados por unidad de área.

Extracción. Se anotarán las características de las extracciones observadas en las unidades de muestreo (especie y el diámetro a la altura del corte).

Mortalidad. Se registrará la especie, DAP_{130} y causa de muerte (natural o deforestación) cuando sea posible.

Caracterización de los servicios ambientales

A través de matrices se calculará el valor económico total de los bienes y servicios que brinda este ecosistema. Además, se aplicarán encuestas a los pobladores de comunidades aledañas para investigar sobre la forma en que perciben y usan el ecosistema de manglar. Con los datos derivados de las encuestas se realizarán bases de datos, mismas que serán procesadas siguiendo la metodología de la Lanza-Espino *et al.*, 2012. Así como también se realizará revisiones de literatura existente y análisis de laboratorio.

Cuantificación del carbono azul, nitrógeno y fósforo

La cuantificación de carbono azul, nitrógeno y fósforo total en suelos de las cuatro parcelas de monitoreo de manglar, se seguirá la metodología propuesta y modificada de Kauffman *et al.* (2011), misma que se resume a continuación. Ubicación del punto de muestreo y su réplica: las parcelas de monitoreo permanente tienen una superficie de $400 m^2$ ($20 \times 20 m$), por lo que se localizarán dos puntos dentro de la parcela de forma aleatoria y con una separación entre ambos puntos de mínimo 5 metros (Figura 5). Uno de estos puntos será el principal (P) y el otro el testigo (T). Se ubicación y preparará el terreno para toma de muestras, se introducirá un nucleador a toda su profundidad, se hará extracción del núcleo, se hará una limpieza superficial de la muestra, se medirán los intervalos de profundidad, se extraerán las muestras a cada intervalo y finalmente la muestra será embolsada lista para ser enviada a laboratorio.

Producción de hojarasca

La determinación del ciclo de producción de hojarasca del manglar será mediante la metodología de recolección *in situ* colocando canastas con un área de $0.25 m^2$ (López-Portillo y

Ezcurra, 1985; Arreola *et al.*, 2004; Félix-Pico *et al.*, 2006; Agraz-Hernández *et al.*, 2011). En cada sitio de estudio se colocarán 3 canastas, las cuales se construirán con tubos de PVC para elaborar el marco (0.5 m x 0.5 m) y fondo con malla de polietileno de 1 mm² de abertura. Las muestras de material foliar se guardarán en bolsas de plástico etiquetadas con los datos de fecha de recolección, número de canasta y sitio, para ser transportadas al laboratorio. Para cada una de las muestras de hojarasca se realizará la separación de los componentes de hojarasca (hoja, rama, flor y propágulo) y serán colocadas en charolas de aluminio y posteriormente en una estufa de convección a una temperatura de 75°C por 48 horas o hasta obtener un peso constante, que es obtenido por separado en una balanza analítica (OHAUS, Scout II). Los datos se expresarán en g m² d⁻¹ teniendo en cuenta el peso seco, el área de cada trampa y el número de días transcurridos entre cada recolección (Félix, 2006). Se integrará la información en los formatos establecidos y se elaborarán gráficas comparativas.

LITERATURA CITADA

Agraz H. C. M., García Z. C, Iriarte V. S., Flores V. F. J. y P. Moreno C. P. 2011. Forest structure, productivity and species phenology of mangroves in the La Mancha lagoon in the Atlantic coast of Mexico. *Wetlands Ecology and Management*, 19(3): 273-293.

Alongi, D. 2008. Mangrove forests: Resilience, protection from tsunamis, and responses to global climate change. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76: pp 1-13.

Arreola L. A., Flores V. F. J. y Ortega R. A. 2004. Structure and litterfall of an arid mangrove stand on the Gulf of California, Mexico. *Aquatic Botany*, 79 (2): 137-143.

Berlanga-Robles, C., Ruiz-Luna, A. 2007. Análisis de las tendencias de cambio del bosque de Mangle del sistema lagunar Teacapán-agua brava, México. una aproximación con el uso de imágenes de satélite Landsat. *Universidad y Ciencia*, 23 (1), 29-46.

CONABIO. 2009. Manglares de México: Extensión y distribución. 2ª ed. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. Pp 18.

CONAFOR. 2009. La reforestación de los manglares en la costa de Oaxaca. Manual comunitario. SEMARNAT, México. Pp 65.

CONANP. 2008. Estudio Previo Justificativo para el establecimiento del área natural protegida con la categoría de Reserva de la Biósfera "Marismas Nacionales Sinaloa". México, D.F., 41 páginas + 2 anexos, total 61 páginas.

De Alba, E, Reyes, M.E, 1998. Valoración económica de los recursos biológicos del país. En La diversidad biológica de México: Estudio de país. CONABIO. México. Pp 212.

Diario Oficial de la Federación. 2002. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001. México D.F. Pp 85.

Diario Oficial de la Federación. 2010. Decreto por el que se declara área natural protegida, con el carácter de reserva de la biósfera, la región conocida como Marismas Nacionales. Felipe de Jesús Calderón Hinojosa.

Duke, N., Meynecke, J., Dittmann, S., Ellison, M., Anger, K., Berger, U., Cannicci, S., Diele, E., Field, C., Koedam, N., Lee, S., Marchand, C., Nordhaus, I. Dahdouh-Guebas, F. 2007. A world without mangroves? *Science* 317: pp. 41-42.

Félix O. E. E., Holguín Q. O. E., Hernández H. A. y Flores V. F. 2006. Mangrove primary production at El Conchalito Estuary in La Paz Bay (Baja California Sur, Mexico). *Ciencias Marinas*, 32: 53-63.

Félix O. E. E., Holguín Q. O. E., Hernández H. A. y Flores V. F. 2006. Mangrove primary production at El Conchalito Estuary in La Paz Bay (Baja California Sur, Mexico). *Ciencias Marinas*, 32: 53-63.

López P. J., y Ezcurra, E. 2002. Los manglares de México: Una revisión. *Madera y Bosques*, Número especial, 27–51

Lugo, A.E. y Snedaker S.C. 1974. The ecology of mangroves. *Annual Review of Ecological and Systematics*, 5:39-64.

Mitsch, W.J., Gosselink, J.G. 2000. *Wetlands*. John Wiley and Sons, Nueva York. 920 pp.

Valderrama-Landeros L.H., Rodríguez-Zúñiga, M.T., Troche-Souza C., Velázquez-Salazar, S., Villeda-Chávez, E., Alcántara-Maya, J.A., Vázquez-Balderas B., Cruz-López M. I., Ressler R. 2017. Manglares de México: actualización y exploración de los datos del sistema de monitoreo 1970/1980–2015. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de México, 128 pp.

Valdez Hernández, J. 2002. Aprovechamiento forestal de manglares en el estado de Nayarit, costa Pacífica de México. *Madera y Bosques*, 8 (Es1), 129-145.

ALTERNATIVAS SUSTENTABLES PARA EL MANEJO DEL GUSANO DE LA CÁPSULA *Heliothis virescens* (Fabricius) EN GARBANZO (*Cicer arietinum* L.).

Arturo Rafael Armenta López¹, Gabriel Antonio Lugo-García¹, Juan Fernando Sánchez Portillo¹, Víctor Gabriel Almada Ruíz¹. Maestría en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte.

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa, Calle 16 y Avenida Japaraqui, 81110. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa México. Aral-150494@hotmail.com.

I.INTRODUCCIÓN

El garbanzo *Cicer arietinum* L., es un cultivo de gran importancia económica junto al frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y chícharo (*Pisum sativum*) porque constituyen el grupo de las fabáceas más importantes, ya que a nivel mundial, México ocupa el décimo lugar en producción (FAOSTAT, 2019). Sinaloa es el principal estado productor, durante el ciclo 2017-2018 se establecieron 44,136 ha con una producción de 85,123 t y un rendimiento promedio de 1.9 t ha⁻¹ (SIAP, 2018). El garbanzo que se produce en este estado ocupa una posición importante en el mercado internacional, por su rentabilidad y características de color, calibre y rugosidad del grano, por lo que, gran parte de la producción se exporta a más de 40 países, entre los que destaca España, Argelia e Italia (Manjarrez, Gómez, Salinas y Gómez, 2004).

La producción se destina para la alimentación humana y animal pero su uso es muy limitado en el país y la mayor parte del producto se destina al consumo en fresco. (Gatel y Champ, 1998; Utrilla, Osorio y Bello, 2007). Las principales limitantes del cultivo son la falta de precio, elevados costos de producción y daños por plagas y enfermedades (Fundación Produce, 2009), donde destaca una enorme gama de enfermedades fungosas, entre las que se encuentra la rabia (*Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *Ciceri*, *F. solani*, (Mart) Apple y Wollenw, *Macrophomina phaseolina*) (Maubl) Ashley, *Sclerotium rolfsii* Sacc y *Rhizoctonia solani* Kuhn, el mildiú (*Peronospora* sp.), Moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Lib) De Bary, moho gris (*Botrytis cinérea*) Pers ex Fr. y roya (*Uromyces ciceri-arietini*) (Gragnon). En cuanto a plagas insectiles, destaca el minador de la hoja *Liriomyza sativae* (Blanchard), gusano trozador *Peridroma saucia* (Hubner), gusano soldado *Spodoptera exigua* (Hubner) y el gusano de la cápsula *Helicoverpa zea* (Boddie) y *Heliothis virescens* (F.) (Rodríguez, Saucedo, Valenzuela, Cortez y Macías, 2017). Este último constituye la plaga más importante para el cultivo en Sinaloa, debido a que se alimenta directamente del grano, provocando así una disminución del rendimiento y calidad del producto, además provoca que se realicen una o más aplicaciones para su control, lo que aumenta los costos de producción y además, pone en riesgo la exportación del producto (Salinas, Cortez y Macías, 2009).

El manejo del gusano de la cápsula se basa principalmente en el uso de insecticidas químicos, tales como clorpirifos, deltametrina y spinoteram, situación que provoca daños a la salud humana y al medio ambiente (Ramírez y Lazcaña, 2001), además de generar resistencia del

insecto a los insecticidas (Dietz, Ploeg y Straaten, 1991) . Ante esta situación, es urgente impulsar el uso de productos de bajo impacto ambiental como los extractos vegetales.

Algunos investigadores han evaluado su efectividad, Moreno *et al.* (2008), demostraron que algunas formulaciones comerciales de nim presentan hasta un 100% de eficacia sobre larvas de *Heliothis virescens* (F.) en el cultivo de garbanzo, debido a que este posee propiedades anti alimentarias y esterilizantes, porque altera la concentración de ecdisteroides y hormona juvenil (Schmutterer, 1990), además se observó que permite preservar la fauna benéfica presente en el cultivo.

Debido a lo anterior, es necesario permanecer en la búsqueda de plantas con propiedades insecticidas que representen una alternativa sustentable para el manejo de la plaga, por lo tanto el objetivo del presente estudio es evaluar diversos extractos vegetales en condiciones de laboratorio.

II.OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar extractos vegetales para el manejo del gusano de la cápsula *Heliothis virescens* (F.) del garbanzo en condiciones de laboratorio.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar la mortalidad del gusano de la cápsula por la aplicación de extractos vegetales de nim *Azadirachta indica* (Juss), higuera (*Ricinus communis* L.), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) y copalquín (*Rhamnus purshiana* L.).
- Evaluar la repelencia provocada por la aplicación de los extractos mencionados anteriormente sobre el gusano de la cápsula.

III. HIPÓTESIS

- Todos los tratamientos inducirán el 70% de mortalidad del gusano de la cápsula del garbanzo *In vitro*.
- El 50% de los tratamientos provocará un efecto repelente sobre la plaga.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Material biológico.

4.1.1. Colecta e identificación taxonómica de las plantas

Antes de efectuar los bioensayos, se llevará a cabo la identificación del material botánico a utilizar para la elaboración de los extractos vegetales. Para lo anterior, se coleccionará el material siguiendo el protocolo para plantas vasculares. Los sitios de colecta se ubicarán en los municipios de El Fuerte, Ahome y Guasave, específicamente en San Blas, Los Mochis y Juan José Ríos. Una vez coleccionado el material por triplicado, se procederá a prensarlo y se trasladará

al Herbario “Charles Darwin” de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (FAVF), perteneciente a la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su identificación mediante el uso de claves taxonómicas de floras regionales y monografías disponibles. Cuando se haya corroborado la identidad específica de las plantas, se realizará el procedimiento final de colecta de la estructura a utilizar de cada una. El material obtenido en esta última colecta igualmente será trasladado Al herbario de la FAVF para su posterior deshidratación durante dos semanas a temperatura ambiente ($\pm 27^{\circ}\text{C}$).

4.1.2. Secado de plantas

4.1.3. Colecta e identificación taxonómica de los gusanos de la cápsula

Se llevarán a cabo muestreos de *Heliothis virescens* en garbanzos ubicados en el municipio Guasave. Se coleccionarán larvas que estén provocando los daños característicos de la plaga, estas serán almacenadas en pequeños vasos con orificios. Posteriormente, las muestras serán trasladadas al laboratorio de entomología, de la Facultad de agricultura del Valle del Fuerte, para la observación de los especímenes, bajo el microscopio óptico. Para corroborar la identidad mediante el uso de claves taxonómicas y guías ilustradas.

4.2. Elaboración de los extractos vegetales

4.2.1. Solución madre

Primeramente se triturará el material deshidratado correspondiente a la parte a utilizar de cada planta, por separado, en el extracto de nim (*Azadirachta indica*) e higuera (*Ricinus communis*), será a partir de la semilla; eucalipto (*Eucalyptus globulus*) a base de hoja y copalquin (*Rhamnus purshiana*) de corteza. Enseguida se molerá el material vegetal con un mortero por separado y apoyándose en el uso de una balanza analítica digital, se procederá a pesar 10 g del material. Posteriormente, en un vaso de vidrio con tapadera, de una capacidad de 250 mL, se verterá el polvo obtenido y además se le adicionará una mezcla, constituida por una solución compuesta de 70 mL de agua destilada, 30 mL de alcohol al 96% y 1 mL de Tween20 al 0.1%. El producto obtenido será agitado durante 10 s, para la homogenización de sus componentes. Enseguida, se colocará el producto en reposo, por un lapso de 72 h, en un lugar seco, a temperatura ambiente y alejado de los rayos del sol. Concluido ese periodo de tiempo, se filtrará el extracto mediante la colocación de una malla sobre un recipiente de plástico de 250 mL para recuperar la fase líquida y así, después obtener la solución madre al 10% (100 mg/L^{-1}). El procedimiento se repetirá para las dos fases y para cada uno de los parámetros a evaluar y cada planta a utilizar durante el experimento.

4.2.2. Preparación de concentraciones prueba

4.2.2.1. Ventana biológica

Se prepararán soluciones al 10% a partir de los extractos etanólicos de nim, higuerilla, eucalipto y copalquín. Posteriormente se llevarán a cabo diluciones subsecuentes para obtener concentraciones de 1-0.00001%, para determinar que concentraciones producen un efecto mínimo y máximo en la mortalidad y repelencia en el intervalo de 0 al 100%. Se le adicionará a cada tratamiento una mezcla que consiste en 45 mL de una solución etanólica a base de agua destilada, alcohol al 96% y tween20 al 0.1%, a excepción del tratamiento al 10% que permanecerá íntegro y al testigo se le añadirán 50 mL. Después, se agregarán 5 mL de concentración al 10% y se adicionará al tratamiento con la concentración inferior inmediata (1%). De este modo y así sucesivamente se elaborarán las dosis restantes (del 1.0-0.00001%).

4.2.2.2. Bioensayos

Una vez descartados los tratamientos inadecuados, se llevará a cabo el bioensayo principal, en donde, se probarán los extractos etanólicos, que mostraron anteriormente un efecto positivo, sobre la mortalidad y repelencia, en el estado L3 de *Heliothis virescens*.

4.3. Bioensayo final

4.3.1. Mortalidad en larvas

El experimento se establecerá bajo un diseño completamente al azar, con 12 tratamientos y un testigo absoluto. Por cada planta a evaluar, se utilizarán 3 dosis y 10 repeticiones de cada una. El testigo consistirá en el mismo número de repeticiones. Las larvas serán obtenidas manualmente en campo y trasladadas en recipientes de plástico al laboratorio. Se colocarán 1 larva de gusano de la cápsula en estado L2 por cada caja Petri de 5 cm y como alimento, se colocará un foliolo, al cual se le impregnará 5 mL del producto con un atomizador. Se aplicará una dosis baja, media y alta, los valores se derivarán de los resultados que se obtendrán en el ensayo preliminar.

La técnica utilizada en el bioensayo, consistirá en asperjar el producto sobre las larvas y el alimento puesto previamente dentro de la caja Petri. Las cajas tratadas se colocarán en condiciones semejantes de temperatura e intensidad lumínica.

Transcurridas 2, 6, 12 y 24 h a partir del momento de la aplicación, se registrará el número de insectos muertos por repetición y se tomará como referencia 10 larvas muertas como el 100%. Para considerar que un insecto ha muerto, se tomará como criterio, tanto la apariencia de los mismos, como la respuesta del insecto, ante la picadura de su cuerpo con una aguja de disección.

4.3.3. Repelencia en larvas

Para la evaluación del posible efecto potencial de repelencia, del extracto etanólico de nim, higuerilla, eucalipto y copalquín, se colocará el mismo número de larvas que en el apartado anterior. Para llevar a cabo el bioensayo se asperjará el foliolo con la concentración

correspondiente y a su vez en la misma cantidad que en el ensayo de mortalidad y se colocará junto a este los insectos sin asperjar dentro de una caja Petri del mismo tamaño. Se introducirán 1 larva con 2 h de ayuno previo por repetición. Cada caja se considerará como una unidad experimental. Para cada tratamiento, se utilizarán larvas en etapa L3. Se llevarán a cabo 10 repeticiones de cada uno.

La técnica de preparación y las concentraciones de los extractos será la misma. Para evaluar el efecto repelente, se tomará la diferencia entre el número de insectos posados y no posados del tratamiento respecto al foliolo testigo. Los datos serán tomados a las 2, 6, 12 y 24 h posteriores a la introducción de los individuos, ésta se expresó en porcentaje (10= 100% en cada repetición).

4.4. Análisis de datos

Los experimentos para la evaluación de la mortalidad y repelencia se establecerán bajo un diseño completamente al azar. Previo a la elección del análisis estadístico a utilizar, los datos serán sometidos a una prueba de normalidad, utilizando el estadístico de Shapiro y Wilk (1965). Todos los análisis a realizar se llevarán a cabo mediante el uso del software estadístico SAS (SAS Institute, 1999).

VI. LITERATURA CITADA

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 165-267.

Dietz, F.J., van der Ploeg, F., van der Straaten, J. 1991. Environment policy and the economy. Elsevier. 331 p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database (FAOSTAT). 2019. FAOSTAT production statistics of crops. Disponible en línea en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>

Fundación Produce. 2009. Formación de variedades de garbanzo blanco para Sinaloa. En: Memoria. VI jornada de transferencia de tecnología del cultivo de garbanzo. Culiacán, Sinaloa. pp. 29-38

Gatel, F. y Champ, M. 1998. Grain legumes in human and animal nutrition- up to dates results and question marks. En: 3rd European Conference on Grain Legumes. Opportunities for HighQuality, Healthy and Added-Value Crops to Meet European Demands (Demands (European Association for grain Legumes, ed.). Valladolid pp. 7-11.

Manjarrez, S. P.; R.M. Gómez G.; R. A. Salinas P. y L. Gómez G. 2004. "Blanco Sinaloa-92. Caso exitoso del mejoramiento genético de garbanzo en Sinaloa", Folleto para Productores.

Número 52. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación e Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

Moreno, J. M., Estrada, J., Shagarodsky, T., Croche, G., Cruz, B., Centeno, E., y Puig, N. 2008. Bioplaguicidas de nim sobre *Heliothis virescens* F.(Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo del garbanzo. In Fitosanidad. (No. 3194).

Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*, 4(2), 67-75.

Rodríguez, C. F. G., Saucedo, A. R. H., Valenzuela, H. V., Cortez, M. E. y Macías, C. J. 2017. Tecnología para producir garbanzo en Sinaloa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Campo Experimental del Valle del Fuerte. Folleto técnico N. 43. 41 p.

Rodríguez-Rodríguez, J. F., Cerna-Chávez, E., Ochoa-Fuentes, Y., Hernández-Bautista, O. 2016. Evaluación de extractos vegetales sobre pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari*) (Hemíptera: Aphididae) en Sorgo en Guanajuato. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias* 3(7): 18-24.

Salinas, P. R. A., Cortez M. E. y Macias C. J. 2008. Guía para Producir Garbanzo en el Norte de Sinaloa. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 29. Los Mochis, Sinaloa, México. 44 p.

Schmutterer, H., 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology* (35: 271-297).

SIAP 2018. Sistema de información Agroalimentaria y Pesquera. Link: <http://infosiap.siap.gob.mx>. Consultado en diciembre de 2018.

Utrilla-Coello, R. G., Osorio-Díaz, P. and Bello-Pérez, L.A. 2007. Alternative use of chickpea flour in breadmaking: chemical composition and starch digestibility. *Food Science and Technolog International*. En prensa.

EFFECTO DE LOS NUTRIENTES MAYORITARIOS DEL MEDIO F EN LA COMPOSICIÓN PROXIMAL DE *Thalassiosira weissflogii*

Mario Martin Peraza Yee¹, Mario Nieves Soto¹, Otoniel Carranza Díaz¹, Pablo Piña Valdez¹, Miguel Ángel Hurtado Oliva¹ y Jesús Roberto Millán Almaraz².

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, ¹Facultad de Ciencias del Mar-UAS (FACIMAR).

nmpyee@gmail.com.

²Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas-UAS (FCFM).

RESUMEN

Se comparó el crecimiento y la composición proximal de *Thalassiosira weissflogii* cultivada en los medios F/4, F/2, F, 2F y 4F con cosechas parciales del 30% del volumen de cultivo. En los niveles de F seleccionados se aumentó o disminuyó hasta un factor de 4 la concentración inicial de nitratos, silicatos y fosfatos, la cual fue medida durante el experimento. La densidad celular de *T. weissflogii* aumentó conforme subió el nivel de F, con un máximo de $0.531 \pm 0.021 \times 10^6$ cel/mL en 4F. La concentración de proteínas (mg/L) en los cultivos de *T. weissflogii* fue significativamente menor en el medio F/4 ($p < 0.05$) en las tres cosechas parciales. No hubo diferencias en el contenido de carbohidratos (mg/L). Los lípidos siempre tuvieron una mayor concentración que proteínas y carbohidratos, siendo los medios 2F y 4F los significativamente más concentrados ($p < 0.05$) (mg/L). La concentración inicial de nitratos, fosfatos y silicatos bajó a medida que aumentó la densidad celular en los cultivos, disminuyendo más del 90% en fosfatos y entre el 94 y 98% para los silicatos. La cosecha parcial del 30% permitió mantener la densidad celular y producción de biomasa de *T. weissflogii* a lo largo del cultivo.

ABSTRACT

The growth and proximate composition of *Thalassiosira weissflogii* cultivated in the media F/4, F/2, F, 2F y 4F was compared with partial harvests of 30% of the culture volume. The initial concentration of nitrates, phosphates and silicates was augmented or reduced by a factor up to four at the selected levels of F medium, which was measured during the experiment. The cellular density of *T. weissflogii* increased with the raised of F level, with a maximum of $0.531 \pm 0.021 \times 10^6$ cel/mL at medium 4F. The concentrations of proteins (mg/L) in the cultures of *T. weissflogii* was significantly lower in the medium F/4 ($p < 0.05$) in the three partial harvests. There were no differences in carbohydrate content (mg/L). The lipids always had a higher concentration than proteins and carbohydrates, with the 2F y 4F mediums being significantly more concentrated ($p < 0.05$) (mg/L). The nitrates, phosphates and silicates initial concentration was lowering with the increased in the culture cellular density, decreasing more than 90% for phosphates and between 94 and 98% for silicates. The partial harvest of 30% allowed sustain a cellular density and biomass production of *T. weissflogii* along the culture.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas tienen un largo historial siendo utilizadas como alimento en acuicultura y a su vez, son fuentes prometedoras de productos de alto valor agregado para fármacos, cosméticos y otras aplicaciones industriales, tales como: β -carotenos, astaxantina, ácidos grasos poliinsaturados y recientemente para la producción de biocombustibles (George *et al.*, 2014).

Las microalgas se pueden producir por sistemas abiertos expuestos al medio ambiente generalmente a gran escala (más usados comercialmente) y por sistemas cerrados en cultivos totalmente encerrados en un recipiente (Borowitzka y Moheimani, 2013). En los sistemas cerrados hay un control sobre los parámetros de cultivo y una alta eficiencia en la producción de biomasa (Tredici *et al.*, 2010).

Estudios previos han demostrado que las microalgas contienen típicamente entre 30 y 50% de proteínas, 8 y 15% de lípidos y de 20 a 40% de carbohidratos en base al peso orgánico cuando son cultivadas en condiciones favorables (Ho *et al.*, 2013). Tradicionalmente el medio de cultivo F/2 de Guillard son los más ampliamente usados para el cultivo de microalgas. Estos debido a que contienen todos los elementos necesarios para el crecimiento de estos microorganismos (Vonshak, 1986). La variación de nutrientes en un medio de cultivo se ha visto que provoca alteraciones en la composición bioquímica de la microalga, la cual puede ser explotada para la producción de lípidos, carbohidratos, proteínas y pigmentos (Markou *et al.*, 2012). Por lo tanto, es necesario conocer la concentración de nutrientes de un medio de cultivo para generar en mayor medida el compuesto de interés en la microalga (George *et al.*, 2014). La falta de nutrientes como nitrógeno y fósforo, provocan un aumento en la concentración de lípidos de la microalga, pero con una menor producción de biomasa (Wen *et al.*, 2009). También, la limitación por nitrógeno ha mostrado una disminución de las proteínas en las microalgas (Dean *et al.*, 2010). La limitación por nutrientes disminuye la densidad celular y tasa de división acumulada que pueden alcanzar las microalgas (López-Elías *et al.*, 2008). Por otro lado, el pH es un parámetro importante a considerar en el cultivo de las microalgas, ya que puede afectar su crecimiento celular, su composición bioquímica y puede llevarlas a la muerte celular (Khatoun *et al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los nutrientes mayoritarios en cinco niveles del medio F sobre el crecimiento celular y composición proximal de *T. weissflogii*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los laboratorios de larvas de camarón, la alimentación de estos organismos (en ciertas etapas) depende del alimento vivo en forma de microalgas. Generalmente, estas microalgas son producidas en estanques con baja productividad, lo que puede representar un coste importante para el laboratorio. Es por eso que se busca producir biomasa de *Thalassiosira weissflogii*, mediante un fotobiorreactor en un recinto con temperatura controlada y con diferentes concentraciones nutrientes mayoritarios (N, P y Si). Y mediante esto determinar qué nivel de nutrientes mayoritarios genera la mayor cantidad de biomasa y evaluar como varía su composición proximal.

HIPÓTESIS

El aumento de la concentración de nutrientes mayoritarios en el medio F tiene un efecto positivo en la cantidad y composición proximal de la biomasa de la microalga *T. weissflogii*.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de diferentes niveles de nutrientes mayoritarios del medio F (4F, 2F, F, F/2 y F/4) en la cantidad y composición proximal de *T. weissflogii*.

- Realizar cultivos semicontinuos de *T. weissflogii* con diferentes niveles de nutrientes mayoritarios en un fotobiorreactor.

- Monitorear los parámetros de luz, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH durante el cultivo de *T. weissflogii*, así como la dinámica de sus nutrientes mayoritarios en el agua.
- Analizar la biomasa microalgal cultivada y la composición proximal de *T. weissflogii* en cada tratamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en FACIMAR dentro del laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos y Cultivos de Apoyo, duró cinco días y contó con cinco niveles de F (F/4, F/2, F, 2F y 4F) cada uno con cuatro réplicas y con un inóculo inicial de 10,000 cel/mL. Se midió pH, temperatura, salinidad, densidad celular y nutrientes presentes en el agua. Se calcularon la tasa de división celular diaria (μ) y acumulada ($\sum\mu$) de acuerdo a Arredondo-Vega y Voltolina, (2007). A partir del tercer día se cosechó el 30% del volumen de cultivo para el análisis de la composición proximal de *T. weissflogii*. El porcentaje de cosecha se estableció a partir de experiencias previas realizadas en el laboratorio. Después de cada cosecha parcial, se reemplazó el volumen cosechado con agua de mar y nutrientes. Los nutrientes mayoritarios también se evaluaron después de cada recambio de agua con nutrientes.

Mediante el uso de filtros GFC previamente precalibrados se determinó el peso seco (PS), peso orgánico (PO) y peso inorgánico (PI) de *T. weissflogii* de acuerdo a la metodología descrita por Arredondo-Vega y Voltolina, (2007). La composición proximal de *T. weissflogii* se determinó con la ayuda de un espectrofotómetro (Hach, DR 5000) mediante los métodos descritos por Lowry *et al.* (1951) para proteínas, por Dubois *et al.* (1956) para carbohidratos, en tanto que la extracción de lípidos se realizó de acuerdo a Blight y Dyer (1959) y su determinación según Pande *et al.* (1963).

La determinación de nitratos, fosfatos y silicatos en el agua de los cultivos se hizo mediante espectrofotometría de acuerdo a la metodología descrita por la APHA-AWWA-WPCF, (1992). La temperatura y el pH se analizaron mediante un potenciómetro Hanna y la salinidad mediante un salinómetro ATAGO.

La composición proximal de *T. weissflogii* cultivada en los cinco tratamientos, fue analizada estadísticamente mediante análisis de varianza de una vía paramétrica o no paramétrica dependiendo del cumplimiento de las condiciones de normalidad y homocedasticidad. Se aplicaron las pruebas de comparaciones múltiples correspondientes en el caso que el estadístico de prueba (F o H) resultaron significativos ($p < 0.05$) (Zar, 1999). Los datos fueron procesados mediante el uso del paquete estadístico SigmaStat 3.5.

RESULTADOS Y DISCUSION

La densidad celular que alcanzó *T. weissflogii* en los distintos niveles del medio F a través del tiempo fue diferente entre los tratamientos (Figura 1).

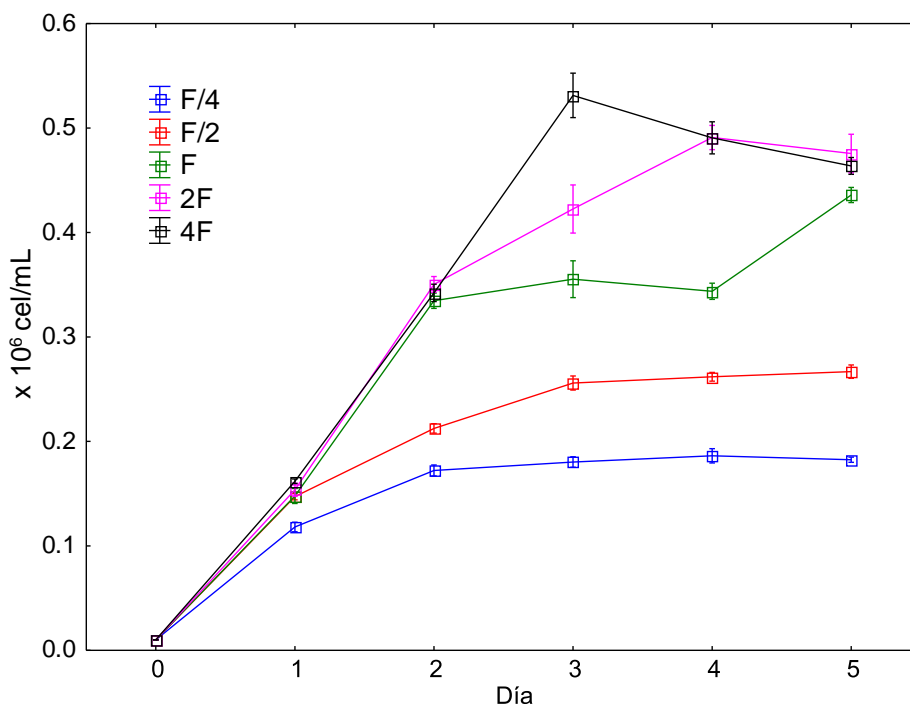


Figura 1. Densidad celular con error estándar de *T. weissflogii* a través de los cinco días de cultivo.

Al día uno, el medio F/4 fue significativamente menor a los demás tratamientos ($p < 0.05$), con un valor de $0.118 \pm 0.004 \times 10^6$ cel/mL (Figura 1). En el día dos, los tratamientos F/4 y F/2 presentaron las densidades celulares más bajas ($p < 0.05$). Al tercer día del cultivo, la densidad celular varió significativamente ($p < 0.05$) de acuerdo a la siguiente relación $4F > 2F > F > F/2 > F/4$, este último con $0.531 \pm 0.021 \times 10^6$ cel/mL. En la última cosecha parcial los medios 2F y 4F fueron significativamente mayores en densidad celular ($p < 0.05$). Este aumento en la densidad celular de *T. weissflogii* del presente estudio a medida que subió el nivel del medio F fue observado por López-Elías *et al.* (2008) en cultivos al aire libre de *Chaetoceros muelleri* cultivada en los medios F/2 y F. La producción de biomasa microalgal en el fotobiorreactor y su porcentaje de peso orgánico (base seca), presentaron modificaciones por el efecto del nivel del medio F en el que se cultivó *T. weissflogii*. Se encontró un incremento en la producción de biomasa conforme aumentó la concentración de nutrientes mayoritarios en el nivel de F. Por otro lado, se observó también una disminución en la fracción orgánica a medida que aumentó el nivel de F (Tabla 2).

Tabla 2. Valores promedio y error estándar de la producción de biomasa en PS (mg/L) y porcentaje de PO por *T. weissflogii* en los cinco niveles del medio F.

	Día	F/4	F/2	F	2F	4F
PS	3	152.3 ^a ±13.0	138.8 ^a ±9.4	162.0 ^a ±2.1	210.8 ^b ±20.9	241.1 ^b ±1.6
	4*	167.2 ^a ±1.4	203.0 ^{ab} ±13.9	203.9 ^{ab} ±7.0	229.1 ^b ±10.3	334.8 ^c ±33.8
	5	126.8 ^a ±4.7	140.5 ^a ±7.8	217.7 ^b ±5.9	214.6 ^b ±6.3	307.0 ^c ±9.8
%PO	3	66.5 ^{bc} ±0.6	75.5 ^c ±4.4	67.9 ^c ±2.1	62.5 ^b ±1.7	52.1 ^a ±0.9

	4	63.2 ^b ±0.9	62.5 ^b ±2.3	61.3 ^b ±1.4	60.4 ^b ±1.3	52.7 ^a ±0.7
	5	63.9 ^c ±0.8	66.9 ^c ±1.2	56.7 ^b ±0.7	59.9 ^b ±2.2	51.8 ^a ±1.3

Letras iguales o comunes indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos por día, $a < b < c$. *Prueba no paramétrica.

Durante la primera cosecha parcial en el día tres, los medios 2F y 4F tuvieron una producción de biomasa por volumen de cultivo significativamente más elevada (Tabla 2). El día cuatro se alcanzó la máxima producción de biomasa de 334.8 ± 33.8 mg/L por el medio 4F. Consecuentemente, el medio F/4 presentó el valor mínimo de producción, con 126.8 ± 4.7 mg/L al día cinco. López-Elías *et al.* (2008) comparó la producción de biomasa (g/m^3) por *C. muelleri* cultivada en estanques al aire libre en los medios F/2 y F, aumentando en ocasiones en un 50% más la biomasa en el medio F sobre el F/2.

En las tres cosechas, se observó un aumento del porcentaje de PO a medida que disminuyó el nivel del medio F, siendo el medio 4F el significativamente más bajo ($p < 0.05$) durante las tres cosechas parciales (Tabla 2). Para el día tres y cinco, el medio 4F presentó un porcentaje de PO de $52.1 \pm 0.9\%$, los mínimos para este estudio. El porcentaje de PO máximo se dio en el medio F/2 al día tres, con $75.5 \pm 4.4\%$.

El aumento de la fracción inorgánica en este estudio a medida que aumentó la concentración de nutrientes mayoritarios fue observada también por López-Elías *et al.* (2008). Para un cultivo de *Chaetoceros muelleri*, estudiado de un nivel F/2 a F, se produjo un incremento del 22% de su PI. Esto fue atribuido a una mayor disponibilidad de silicatos en el medio F.

Se encontraron variaciones en la concentración (mg/L) de proteínas, carbohidratos y lípidos entre los cinco niveles del medio F con *T. weissflogii*. A continuación, se muestran estas diferencias en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores promedio y error estándar en mg/L de la cantidad de proteínas, carbohidratos y lípidos de *T. weissflogii* en cinco niveles del medio F durante las cosechas parciales.

Día		F/4	F/2	F	2F	4F
3	Proteínas*	27.9 ^a ±1.1	38.3 ^b ±1.8	48.4 ^b ±4.6	54.7 ^b ±6.2	52.4 ^b ±4.1
	Carbohidratos*	30.6 ^a ±0.8	28.7 ^a ±2.1	26.5 ^a ±1.0	39.0 ^b ±4.7	37.0 ^b ±1.4
	Lípidos	41.6 ^a ±3.6	40.5 ^a ±2.5	47.4 ^a ±0.6	68.6 ^b ±3.4	64.4 ^b ±2.5
4	Proteínas	28.6 ^a ±0.4	39.1 ^b ±2.5	45.2 ^b ±2.9	47.7 ^b ±2.6	54.1 ^c ±2.5
	Carbohidratos	33.3 ^a ±0.5	32.6 ^a ±2.3	30.0 ^a ±2.4	34.7 ^a ±2.4	38.6 ^a ±2.2
	Lípidos	42.4 ^a ±0.6	42.6 ^a ±1.6	48.9 ^a ±0.3	65.7 ^b ±3.0	65.6 ^b ±3.7
5	Proteínas*	26.5 ^a ±1.2	37.0 ^b ±0.8	37.8 ^b ±2.0	43.6 ^b ±3.9	47.0 ^b ±3.0
	Carbohidratos	36.1 ^a ±0.3	34.2 ^a ±1.7	28.9 ^a ±2.5	33.6 ^a ±3.0	34.2 ^a ±1.7
	Lípidos	42.0 ^a ±2.3	39.7 ^a ±1.6	64.7 ^b ±2.3	65.3 ^b ±2.0	63.1 ^b ±1.2

Letras iguales o comunes indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos por día, $a < b < c$. *Prueba no paramétrica.

La concentración de proteínas en los cultivos de *T. weissflogii* (mg/L) aumentó conforme subió el nivel del medio F, mostrando diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla 3). En el día tres se

observó el valor máximo de proteínas en el medio 2F con 54.7 ± 6.2 mg/L, en tanto que el medio F/4 presentó la menor concentración ($p < 0.05$). En el día cuatro el medio F/4 presentó la concentración significativamente más baja de proteínas y el medio 4F la más alta ($p < 0.05$). El día cinco se obtuvo la concentración mínima de proteínas por el medio F/4 con 26.5 ± 1.2 mg/L, estadísticamente menor a los demás tratamientos ($p < 0.05$). Piña *et al.* (2007) encontró valores de producción proteica similares a los de este estudio empleando diferentes fuentes de nitrógeno. Utilizando la microalga *T. weissflogii*, los autores encontraron concentraciones de proteína de 49.3 mg/L en un medio F lo cual es comparable al valor encontrado en este estudio para el medio F de 48.2 a 54.5 mg/L en diferentes cosechas parciales. Sin embargo, estos resultados fueron mayores a los encontrados en el medio F/4 con valores de 30.6 a 32.7 mg/L; y por debajo de los medios 2F y 4F en los días tres y cuatro con valores entre 57.6 y 64.4 mg/L en proteína. De igual forma, la cantidad de proteínas en el medio F/2 del presente estudio (Tabla 3) es comparable al reportado por García *et al.* (2012) quienes para este mismo medio, salinidad y especie de microalga encontraron un valor aproximado de 35 mg/L en la fase estacionaria.

Los carbohidratos producidos por volumen de cultivo de *T. weissflogii* en los distintos niveles de F, presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos al día tres, siendo más concentrados los medios 2F y 4F. El valor mínimo de concentración de carbohidratos se encontró en el medio F al día tres con 26.5 ± 1.0 mg/L y el máximo fue de 39.0 ± 4.7 mg/L ese mismo día. Estos resultados para *T. weissflogii* en carbohidratos son similares a los encontrados por Piña *et al.* (2007) y García *et al.* (2012) con alrededor de 33.9 y 25.3 mg/L respectivamente.

La concentración de lípidos por volumen de cultivo en los días tres y cuatro fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en los medios 4F y 2F, alcanzado el valor máximo el día tres por el medio 2F con 68.6 ± 3.4 mg/L (Tabla 3). Al día cinco, la concentración de lípidos en los medios F/4 y F2 fue significativamente menor a los demás tratamientos ($p < 0.05$), presentándose el valor mínimo en el medio F/2 con 39.7 ± 1.6 mg/L. El presente trabajo difiere de los resultados reportados por Piña *et al.* (2007) para *T. weissflogii* cultivada en volumen de 3 L los cuales fueron de 32.5 mg/L en un medio F a 25 °C.

Desde el inicio del cultivo se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el valor del pH entre los niveles del medio F donde se cultivó *T. weissflogii*. En el día cero, los medios F/4 y F/2 fueron los significativamente más bajos ($p < 0.05$) con valores de 8.1 ± 0.0 , en tanto que el medio 4F mostró el valor más elevado de 8.7 ± 0.0 . Con el transcurrir de los días el valor del pH fue aumentando en los tratamientos, y si bien se presentaron diferencias significativas en los días uno y cinco, son valores muy cercanos entre sí. Al final del experimento todos tuvieron valores de pH entre 9.4 y 9.7. El aumento del pH fue ocasionado por una mayor demanda del dióxido de carbono y el ion bicarbonato presente en el agua, aumentando la fracción de carbonatos en el agua y por ende disminuyendo la disponibilidad de CO_2 para las microalgas (Khatoun *et al.*, 2014).

En todos los niveles del medio F, la tendencia a medida que aumentó la densidad celular a través de los días fue la disminución en la concentración de nitratos (Tabla 4). La relación $4F > 2F > F > F/2 > F/4$ en la concentración de nitratos marca las diferencias significativas desde el día cero ($p < 0.05$), relación que se mantuvo en los días posteriores, pero no siempre con diferencias significativas. El mayor gasto de nitratos en la primera cosecha parcial, fue del nivel

4F con una disminución de 45 mg/L del día cero al tres. En tanto que los niveles F/4 y 2F presentaron el menor gasto, con 6 y 7 mg/L respectivamente. El consumo de nitratos en cultivos de microalgas ha sido documentado en otros estudios (Hou *et al.*, 2007). Sin embargo, no se había investigado el efecto de la disminución o aumento de los tres nutrientes mayoritarios en el crecimiento y composición proximal de *T. weissflogii* cultivada en base a un medio F. Las cosechas del 30% a partir del tercer día tuvieron una influencia sobre la calidad del agua. Después de cada recambio la concentración de nitratos aumentó, sobre todo en los niveles F/4, F/2 y F (Tabla 4).

Tabla 4. Valores promedio y error estándar de la concentración de nitratos (N-NO₃⁻ mg/L) en los distintos niveles del medio F a través de los días.

	0	1*	2*	3*	R1*	4*	R2*	5*
F/4	7.9 ^a ±0.5	5.9 ^a ±0.1	2.5 ^a ±1.1	1.7 ^a ±0.7	5.2 ^a ±1.6	0.4 ^a ±0.2	5.8 ^a ±1.1	2.2 ^a ±0.9
F/2	19.4 ^b ±1.1	12.9 ^b ±1.	7.4 ^b ±0.6	6.5 ^b ±1.3	10.8 ^a ±1.	4.5 ^b ±0.9	10.6 ^a ±1.	7.7 ^b ±0.6
F	32.3 ^c ±2.2	24.9 ^c ±0.	19.8 ^c ±1.	21.4 ^c ±1.	26.0 ^b ±0.	28.6 ^c ±2.	32.0 ^b ±2.	21.6 ^c ±0.
2F	54.9 ^d ±0.8	51.4 ^d ±1.	43.4 ^d ±2.	48.2 ^d ±5.	47.6 ^c ±3.	62.2 ^d ±3.	54.2 ^c ±3.	48.9 ^d ±2.
4F	104.9 ^e ±1.	96.6 ^e ±1.	85.2 ^e ±2.	60.4 ^d ±2.	85.7 ^d ±4.	91.7 ^e ±5.	89.9 ^d ±5.	82.7 ^e ±2.
	6	9	9	6	1	2	0	7

Letras iguales o comunes indican que no hay diferencias significativas (p<0.05) entre tratamientos por día, a<b<c.*Prueba no paramétrica. R1 recambio 1. R2 recambio 2.

Se ha reportado que la limitación por nitrógeno en las microalgas, afecta la cinética de su densidad celular. Por ejemplo, Hou *et al.* (2007), reportaron densidades celulares más bajas para *T. weissflogii* cuando era cultivada con limitación de nitrógeno, alcanzando una densidad celular de casi del doble cuando se comparó el limitado (50 NO₃⁻ μmol/L aprox.) con el no limitado (425 NO₃⁻ μmol/L aproximadamente).

Asociado a lo anterior, una densidad celular menor representa una menor tasa de división celular. Lo cual en las diatomeas implica mayores tamaños celulares, lo cual se aprecia en el PS unitario alcanzado por *T. weissflogii* al día tres (Tabla 5). Esto debido a que entre mayor es el número de divisiones celulares en las diatomeas, su tamaño se va reduciendo (Huysman *et al.*, 2014). El PS por unidad de microalga en el medio F/4 fue de 931.7±28.7 pg/cel, significativamente más alto que los demás niveles de F (p<0.05) (Tabla 5).

La mayor concentración de proteína en mg/L se observó en los medios 4F, 2F y F con *T. weissflogii* en los días tres, cuatro y cinco (Tabla 4). En cambio, a nivel celular se observó que los medios F/4 y 4F presentaron un porcentaje de proteínas menor a los demás niveles de F (Tabla 5). Los porcentajes de proteínas en la célula de *T. weissflogii* durante el día cuatro de este estudio son comparables a los encontrados por Piña *et al.* (2007) cuando se analizan desde la perspectiva de porcentaje celular, con aproximadamente un 24%. Sin embargo, está por encima de algunos tratamientos como el F/4 y 4F (Tabla 5). Se ha reportado que la deficiencia por nitratos provoca una disminución en la cantidad de proteína (Dean *et al.*, 2010).

Lo anterior es válido para el medio F/4, en tanto que no se observó para el 4F. Este menor porcentaje de proteínas en el 4F, se puede dar posiblemente por una mayor asimilación de silicatos por *T. weissflogii*. Adicionalmente, se ha demostrado que la limitación por nitrógeno y/o fósforo para algunas microalgas, propicia la acumulación de sus lípidos (Zhu *et al.*, 2016). A pesar de que los medios F/2 y F/4 son los más limitados en estos nutrientes mayoritarios (Tablas 4 y 5), la concentración de lípidos en la biomasa de *T. weissflogii* y su porcentaje de lípidos a nivel celular no aumentaron, a excepción del día cinco para el F/4 a nivel celular (Tabla 3 y 5). La mayor concentración de lípidos por volumen de cultivo se alcanzó por los medios F, 2F y 4F debido a su densidad celular más alta (Figura 1).

Tabla 5. Valores promedio y error estándar de peso seco (pg/cel) por célula de *T. weissflogii*, composición proximal en porcentaje en relación al peso seco en los cinco niveles del medio F.

Día		F/4	F/2	F	2F	4F
3	P. Seco	931.7 ^b ±28.7	544.0 ^a ±41.6	459 ^a ±23.3	496 ^a ±21.8	456 ^a ±19.3
	Proteínas	18.6 ^a ±1.3	27.8 ^{bc} ±1.2	29.9 ^c ±2.8	25.9 ^{bc} ±1.6	21.7 ^{ab} ±1.7
	Carbohidratos	20.7 ^a ±2.5	20.7 ^a ±1.3	16.4 ^a ±0.7	18.5 ^a ±1.2	15.3 ^a ±0.6
	*Lípidos	28.1 ^a ±3.5	29.5 ^a ±2.5	29.3 ^a ±0.7	33.4 ^a ±3.5	26.7 ^a ±0.9
4	P. Seco	901.4 ^c ±32.1	773.5 ^{bc} ±41.9	594.2 ^a ±24.6	466.3 ^a ±14.3	688.9 ^b ±83.6
	Proteínas	17.1 ^a ±0.3	19.3 ^{ab} ±1.1	22.1 ^b ±0.9	20.8 ^b ±0.4	16.6 ^a ±1.5
	Carbohidratos	19.9 ^c ±0.3	16.2 ^b ±1.3	14.6 ^{ab} ±0.9	15.2 ^{ab} ±0.9	11.8 ^a ±1.0
	Lípidos	25.4 ^{ab} ±0.6	21.4 ^a ±2.0	24.1 ^{ab} ±0.8	28.8 ^b ±1.6	20.1 ^a ±1.9
5	*P. Seco	695.7 ^b ±33.9	529.4 ^a ±42.1	499.2 ^a ±5.4	451.7 ^a ±6.2	661.6 ^b ±11.9
	Proteínas	20.9 ^b ±1.2	26.5 ^c ±1.2	17.4 ^{ab} ±0.9	20.3 ^b ±1.7	15.3 ^a ±0.6
	Carbohidratos	28.6 ^d ±0.9	24.4 ^c ±0.6	13.2 ^{ab} ±0.8	15.7 ^b ±1.3	11.2 ^a ±0.6
	Lípidos	33.4 ^b ±2.6	28.4 ^b ±1.2	29.7 ^b ±1.0	30.5 ^b ±0.9	20.6 ^a ±0.6

Letras iguales o comunes indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos por día, $a < b < c$. *Prueba no paramétrica. R1 recambio 1. R2 recambio 2.

Los fosfatos mostraron un gasto mucho mayor en relación a su concentración inicial respecto a los nitratos (Tabla 6). Al igual que los nitratos, el fosfato disminuyó a medida que aumentó la densidad celular. La concentración de fosfatos fue significativamente menor ($p < 0.05$) en el medio F/4 durante los cinco días que duró el cultivo. En la última cosecha parcial la concentración de fosfatos no mostró alguna tendencia, solo se presentaron diferencias significativas entre los medios F/4 y 2F ($p < 0.05$). La mayor disminución de fosfatos se encontró en la primera cosecha parcial en el medio 4F, disminuyendo 189 mg/L respecto a la concentración inicial. En tanto que los medios F/4 y F/2, en la primera cosecha, su concentración disminuyó a valores cercanos a 0 de $P-PO_4^{3-}$ mg/L. Con el inicio de los recambios

al tercer día, la concentración de fosfatos aumentó en los distintos medios F (Tabla 6). La deficiencia por fósforo en las microalgas se relaciona con una menor síntesis de proteínas y un mayor acumulado en su biomasa de carbohidratos o lípidos (Dean *et al.*, 2008). En este estudio se observó una tendencia de incrementarse el porcentaje de carbohidratos a nivel celular a medida que bajó la concentración de nutrientes (Tabla 5 y 6). El porcentaje de carbohidratos en la célula de *T. weissflogii* fue comparable al encontrado por Piña *et al.* (2007). Los autores reportaron un porcentaje de carbohidratos aproximado de 16% para un medio F, similar al encontrado en este trabajo en el medio F a través de las tres cosechas parciales, pero por debajo de los medios F/4 y F/2 en el día cinco (Tabla 5).

Tabla 6. Valores promedio y error estándar de la concentración de fosfatos ($P-PO_4^{3-} \times 10^{-1}$ mg/L) en los distintos niveles del medio F a través de los días.

	0	1*	2*	3*	R1*	4*	R2*	5
F/4	0.9 ^a ±0.2	0.9 ^a ±0.1	0.3 ^a ±0.1	0.1 ^a ±0.0	0.1 ^a ±0.0	1.5 ^a ±0.1	1.8 ^a ±0.1	4.4 ^a ±0.3
F/2	4.9 ^b ±0.6	3.2 ^b ±0.0	1.1 ^b ±0.0	0.1 ^a ±0.0	0.9 ^b ±0.1	1.5 ^a ±0.1	2.6 ^b ±0.2	8.1 ^{ab} ±0.9
F	9.2 ^c ±0.4	5.7 ^c ±0.6	2.5 ^c ±2.6	1.2 ^b ±0.0	3.1 ^c ±0.1	2.7 ^b ±0.2	6.6 ^{cd} ±0.8	7.3 ^{ab} ±1.4
2F	17.7 ^d ±0.2	8.1 ^c ±1.1	3.2 ^c ±0.5	1.8 ^c ±0.0	3.8 ^c ±0.4	3.5 ^c ±0.2	5.3 ^c ±0.1	8.9 ^b ±1.0
4F	21.3 ^e ±0.9	8.6 ^c ±0.5	4.3 ^d ±1.1	2.4 ^c ±0.0	5.6 ^d ±0.4	4.7 ^c ±0.8	7.0 ^d ±0.2	7.8 ^{ab} ±0.8

Letras iguales o comunes indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos por día, $a < b < c$. *Prueba no paramétrica. R1 recambio 1. R2 recambio 2.

En todos los niveles del medio F los silicatos se consumieron casi en su totalidad al día tres del cultivo (Tabla 7). No se detectaron silicatos en los medios F el último día del experimento, a excepción del 4F. A partir del día uno la concentración de silicatos entre los niveles del medio F presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) (Tabla 7). Para el día tres todos los medios de F tuvieron concentraciones de silicatos por debajo de 1 mg/L, siendo los medios F/4, F/2 y F los significativamente menores (Tabla 7).

Tabla 7. Valores promedio y error estándar de la concentración de silicatos ($Si-SiO_4^{4-}$ mg/L) en los distintos niveles del medio F a través de los días.

	0*	1	2	3	R1	4*	R2	5
F/4	8.0 ^b ±3.3	2.1 ^a ±0.6	0.6 ^a ±4	0.1 ^a ±0.0	1.1 ^a ±0.3	0.4 ^a ±0.1	1.8 ^a ±0.6	Nd
F/2	3.8 ^a ±0.3	2.0 ^a ±0.1	1.1 ^a ±8	0.1 ^a ±0.0	0.8 ^a ±0.1	0.1 ^a ±0.1	0.8 ^a ±0.3	Nd
F	9.0 ^b ±1.9	3.9 ^b ±0.3	2.3 ^b ±10	0.2 ^a ±0.1	2.2 ^b ±0.4	0.7 ^a ±0.4	4.4 ^b ±0.8	Nd
2F	15.0 ^b ±4.6	5.2 ^b ±0.6	2.5 ^b ±4	0.3 ^b ±0.1	3.8 ^c ±0.2	3.7 ^b ±0.9	6.5 ^c ±0.3	Nd
4F	15.4 ^b ±1.9	8.4 ^c ±0.4	3.4 ^c ±5	0.9 ^c ±0.0	6.8 ^d ±0.5	3.6 ^b ±0.2	9.3 ^d ±0.2	2.8±1.0

Letras iguales o comunes indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos por día, $a < b < c$. *Prueba no paramétrica. Nd no detectado. R1 recambio 1. R2 recambio 2.

En particular los silicatos en el medio de cultivo para diatomeas, tienen la función de contribuir a la formación de la frústula (Hildebrand, 2008). Por ende, se ha demostrado que la limitación por silicatos puede detener el ciclo celular de las diatomeas, influyendo negativamente en la tasa de

división celular. Por ejemplo, Vaultot *et al.* (1987), sometieron a la microalga *T. weissflogii* a varias combinaciones de limitación por silicatos, concluyendo que esta afecta la fase G₁ del ciclo celular. Lo anteriormente descrito se observó en el presente trabajo para los medios F/4 y F/2 con densidades celulares y tasas de división celular más bajas por la limitación de silicatos (Tablas 1 y 7). Adicionalmente, se ha reportado que la limitación por silicatos induce la acumulación de lípidos en las diatomeas. Por ejemplo, Taguchi *et al.* (1987) mostró en tres especies de diatomeas un aumento en la fracción lipídica durante la fase estacionaria (aproximadamente en el día siete de los cultivos), cuando los niveles de silicatos estuvieron por debajo de aproximadamente 28 Si-SiO₄⁴⁻ µg/L. Finalmente se encontró que el porcentaje de lípidos a nivel celular aumentó en tanto que el nivel de F bajó (Tabla 5 y 7). Los porcentajes de lípidos en la célula de *T. weissflogii* no fueron comparables a los encontrados por Piña *et al.* (2007) para esta misma especie con un aproximado de 15% en un medio F (Tabla 5).

CONCLUSIONES

La densidad celular y la tasa de división acumulada subió a medida que aumentó la concentración de nutrientes mayoritarios en el nivel del medio F. La biomasa producida y la fracción de peso inorgánico aumentaron al subir el nivel del medio F. Entre los nutrientes mayoritarios, los nitratos fueron los que menos se consumieron, siendo más demandados los fosfatos y silicatos, hasta agotarse en el caso de los silicatos en los medios F/4, F/2, F y 2F en el día cinco del cultivo. La concentración de proteínas en la biomasa de *T. weissflogii* en el medio F/4 fue la más baja en las tres cosechas parciales por la menor concentración de nutrientes mayoritarios. Los lípidos en los medios 2F y 4F presentaron mayor concentración debido a la abundancia de nutrientes mayoritarios que produjeron cantidades de biomasa más elevadas. La limitación por nutrientes mayoritarios generó que las células de *T. weissflogii* tuvieran una mayor biomasa. También a nivel celular, hubo un mayor porcentaje de carbohidratos mientras disminuyó la concentración de nutrientes mayoritarios en el cultivo. En cambio, el aumento en el porcentaje de lípidos en la célula de *T. weissflogii* solo se observó hasta el final del experimento atribuido a la baja concentración de nutrientes. La cosecha parcial del 30% con recambios de nutrientes en los cultivos de *T. weissflogii* permitió mantener la densidad celular y producción de biomasa a lo largo del cultivo para los niveles F estudiados.

LITERATURA CITADA

- APHA, AWWA, y WPCF. 1992. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. USA.
- Arredondo-Vega, B. O. y Voltolina, D. 2007. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. La Paz, B. C. S., México. 97 pp.
- Bligh, E. G. y Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37, 911-917. DOI: 10.1139/o59-099.
- Borowitzka, M. A. y Moheimani, N. R. 2013. Open Pond Culture Systems. En Algae for Biofuels. Eds Borowitzka, M. A. y Moheimani, N. R. Springer. ISBN: 978-94-007-5479-9.
- Khatoun, H., Norazira, A. R., Sanjoy, B., Nazurah, H., Siti, S. S., Nur, H. Z., Faturrahman, L., Siti, H. A. H. y Azizah, E. 2014. Effects of different salinities and pH on the growth and proximate composition of *Nannochloropsis* sp. and *Tetraselmis* sp. isolated from South China Sea cultured

under control and natural condition. *International Biodeterioration & Biodegradation* 95, 11 – 18. ISSN: 0964-8305; DOI: 10.1016/j.ibiod.2014.06.022.

Dean, A. P., Estrada, B., Nicholson, J. M. y Sigee, D. C. 2008. Molecular response of *Anabaena flos-aquae* to differing concentrations of phosphorus: a combined Fourier transform infrared and X-ray microanalytical study. *Phycological Research* 56(3), 193-201. ISSN: 1440-1835; DOI: 10.1111/j.1440-1835.2008.00501.x

Dean, A. P., Sigee, D.C., Estrada, B. y Pittman J.K. 2010. Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae. *Bioresource Technology* 101 4499 – 4507. ISSN: 0960-8524; DOI: 10.1016/j.biortech.2010.01.065.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 18, 350-356. ISSN: 1520-6882; DOI: 10.1021/ac60111a017.

García, N., López-Elías, J. A., Miranda, A., Martínez-Porchas, M., Huerta, N. y García, A. 2012. Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases. *Latin American Journal of Aquatic Research* 40(2), 435-440. ISSN: 0718-560X; DOI: 10.3856/vol40-issue2-fulltext-18.

George, B., Pancha, I., Desai, C., Chokshi, K., Paliwa, C., Ghosh, T. y Mishra, S. 2014. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for bio-fuel production. *Bioresource Technology* 171, 367-374.

Hildebrand, M. 2008. Diatoms, biomineralization processes, and genomics. *Chemicals Reviews* 108, 4855 – 4874. ISSN: 0960-8524; DOI: 10.1016/j.biortech.2014.08.086.

Ho, S.H., Li, P.J., Liu, C.C. y Chang, J.S. 2013. Bioprocess development on microalgae based CO₂ fixation and bioethanol production using *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology* 145, 142-149. ISSN: 0960-8524; DOI: 10.1016/j.biortech.2013.02.119.

Hou, J., Huang, B., Cao, Z., Chen, J. y Hong, H. 2007. Effects of nutrient limitation on pigments in *Thalassiosira weissflogii* and *Prorocentrum donghaiense*. *Journal of Integrative Plant Biology* 49(5), 686-697. ISSN: 1744-7909; DOI:10.1111/j.1744-7909.2007.00449.x.

Huysman, M. J. J., Vyverman, W., De Veylder, L. 2014. Molecular regulation of the diatom cell cycle. *Journal of Experimental Botany*. 65 (10), 2573–2584. ISSN: 1460-2431; DOI: 10.1093/jxb/ert387.

López-Elías, J. A., Enríquez-Ocaña, F., Pablos-Mitre, M. N., Huerta-Aldaz, N., Leal, S., Miranda-Baeza, A., Nieves-Soto, M. y Vásquez-Salgado, I. 2008. Growth and biomass production of *Chaetoceros muelleri* in mass outdoor cultures: effect of the hour of the inoculation, size of the inoculum and culture medium. *Revista de Investigaciones Marinas* 29(2), 171-177. ISSN: 1991-6086.

Lowry, O. H., Rosebrough, J., Farr, A. L. y Randall, R. L. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275. ISSN: 1083-351X.

Markou, G., Angelidaki, I. y Georgakakis, D. 2012. Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Applied microbiology and biotechnology* 96(3), 631 – 645. ISSN: 1432-0614; DOI: 10.1016/j.biortech.2012.05.055.

- Pande, S. V., Khan, R. P. y Venkitasubramanian, T. A. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. *Analytical Biochemistry* 6, 415-423. ISSN: 0003-2697; DOI: 10.1016/0003-2697(63)90094-0.
- Piña, P., Medina, M. A., Nieves, M., Leal, S., López-Elías, J. A. y Guerrero, M. A. 2007. Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. *Revista de Investigación Marina* 28(3), 225-236. ISSN: 1991-6086.
- Tredici, M. R. 2010. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. *Future Science Biofuels* 1, 143-162. ISSN: 1759-7277; DOI: 10.4155/bfs.09.10.
- Vaulot, D., Olson, R. J. y Chisholm, S. W. 1987. Cell cycle response to nutrient starvation in two phytoplankton species, *Thalassiosira weissflogii* and *Hymenomonas carterae*. *Marine Biology* 95, 625-630.
- Vonshak, A. 1986. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: *Handbook of microalgal mass culture*, CRC Press, Inc. Boca Raton, FL, pp: 117 – 145. ISSN: 1432-1793; DOI: 10.1007/BF00393106.
- Wen, S. Y., Zhao, D. Z., Zhao, L., Yang, J. H., Zhang, F. S., Wang, L., Gao, S. G. y Sun, D. (2009). *Journal of Dalian Maritime University* 35, 118.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4th ed. Prentice Hall. New jersey, USA. 663 pp.
- Zhu, L. D., Li, Z. H. y Hiltunen, E. 2016. Strategies for lipid production improvement in microalgae as a biodiesel Feedstock. *BioMed Research International* Vol. 2016, Article ID 8792548, 8 pp. ISSN: 2314-6141; DOI: 10.1155/2016/8792548

CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN PROXIMAL DE CUATRO ESPECIES DE MICROALGAS UTILIZADAS EN ACUICULTURA

Martha Irene Millán Almaraz¹, Mario Nieves Soto¹, Diana Judith López Peraza¹, José Ángel López Valenzuela², Martha Elisa Rivas Vega³ y Anselmo Miranda Baeza³.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, ¹Facultad de Ciencias del Mar-UAS (FACIMAR)
marthamillan89@gmail.com

²Facultad de Ciencias Químico Biológicas-UAS (FCQB)

³Universidad Estatal de Sonora. Campus Navojoa

RESUMEN

En el presente trabajo se realizaron cultivos de las microalgas *Thalassiosira weissflogii*, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* y *Nannochloropsis* sp., con la finalidad de analizar la curva de crecimiento e identificar la fase de crecimiento exponencial de cada microalga, así como determinar la equivalencia lipídica entre las cuatro especies. Para los cultivos se utilizó el medio F y se mantuvieron las siguientes condiciones: 25 °C, 35 ups y una intensidad luminosa de 6000 luxes. Se determinó el peso seco (PS), peso orgánico (PO) y cenizas, así como la composición proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) durante la fase de crecimiento exponencial de las microalgas. La microalga *Nannochloropsis* sp. registró la mayor densidad celular (hasta 54 x 10⁶ cel/mL al día 13) en comparación con las otras especies, así como la tasa de división diaria acumulada más alta, alcanzando hasta 7.5 divisiones celulares. Los valores de pH de las distintas microalgas se mantuvieron entre 7.9 y 10.4. *T. weissflogii* registró los valores unitarios más altos de PS (461 pg/cel) y PO (343.14 pg/cel); así como en el contenido de proteínas (122.99 pg/cel), carbohidratos (159.70 pg/cel) y lípidos (179.81 pg/cel), siendo estos, en todos los casos, estadísticamente superiores a lo registrado por el resto de las microalgas. No obstante, el porcentaje de proteínas respecto al contenido de materia orgánica fue significativamente superior en *C. muelleri*. Las proteínas y los lípidos fueron los compuestos más abundantes en las microalgas analizadas, mientras que los carbohidratos fueron los que se encontraron en menor proporción.

Palabras clave: Microalgas, composición proximal, lípidos.

ABSTRACT

In the present work, cultures of the microalgae *Thalassiosira weissflogii*, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* and *Nannochloropsis* sp. were carried out in order to analyze the growth curve and identify the exponential growth phase of each microalgae, as well as to determine the lipid equivalence between the four species. The F medium was used for the cultures and the following conditions were maintained: 25 °C, 35 ups and a luminous intensity of 6000 luxes. The dry weight (DW), organic weight (OW) and ash were determined, as well as the proximal composition (proteins, carbohydrates and lipids) during the exponential growth phase of the microalgae. The microalga *Nannochloropsis* sp. recorded the highest cell density (up to 54 x 10⁶ cel/mL at day 13) compared to the other species, as well as the highest cumulative daily division rate, reaching up to 7.5 cell divisions. The pH values of the different microalgae were maintained between 7.9 and 10.4. *T. weissflogii* recorded the highest unit values of DW (461 pg/cel) and OW (343.14 pg/cel); as well as in the content of proteins (122.99 pg/cel), carbohydrates (159.70 pg/cel) and lipids (179.81 pg/cel), these being, in all cases, statistically superior to that recorded

in the rest of the microalgae. However, the percentage of proteins with respect to the content of organic matter was significantly higher in *C. muelleri*. Proteins and lipids were the most abundant compounds in the microalgae analyzed, while carbohydrates were those found in a lesser proportion.

Key words: Microalgae, proximal composition, lipids.

INTRODUCCIÓN

En acuicultura, las microalgas son la principal fuente de alimentación de moluscos filtradores y estados larvarios de peces y crustáceos (Mendoza *et al.* 2011). Entre los géneros de microalgas más utilizados como alimento vivo destacan: *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema* y *Thalassiosira* (Hernández y Labbé, 2014). El crecimiento y la composición bioquímica de las microalgas son afectados por las condiciones del cultivo, tales como: la intensidad de luz, limitación de nutrientes, temperatura, pH y salinidad (Cho *et al.* 2007). Las microalgas deben de tener ciertas propiedades nutricionales para ser utilizadas como alimento vivo y producir altas supervivencias de larvas de crustáceos, entre la cuales están: un contenido proteico superior al 25%, 8-30% de carbohidratos y alrededor de un 10% de lípidos, incluyendo especialmente los ácidos grasos esenciales como el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3; Guevara-Acosta, 2011).

Algunas microalgas tienen la capacidad de acumular grandes cantidades de lípidos cuando son sometidas a condiciones de estrés ambiental (Ho *et al.*, 2011). Se ha observado que en condiciones óptimas de crecimiento, se producen grandes cantidades de biomasa microalgal, pero con contenidos lipídicos relativamente bajos; mientras que, en condiciones ambientales desfavorables o estrés, muchas microalgas alteran sus rutas biosintéticas de lípidos hacia la formación y acumulación de lípidos neutros, principalmente en forma de triglicéridos, lo que permite que las microalgas puedan soportar estas condiciones adversas (Sharma *et al.*, 2012).

En relación a los lípidos, se sabe que estos desempeñan una función estructural en la membrana celular y en otros organelos y son considerados como una reserva de carbono y energía. Asimismo, actúan como precursores de hormonas esteroideas, eicosanoides y otros mediadores lipídicos (Solovchenko, 2012).

Debido a la importancia de los lípidos en el desarrollo de diversas especies marinas, el presente estudio busca establecer la equivalencia lipídica entre las cuatro especies de microalgas antes mencionadas, durante la fase de crecimiento exponencial de los cultivos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las microalgas son los organismos más utilizados como alimento vivo en acuicultura, debido a que poseen una composición química adecuada. Entre sus componentes destacan los lípidos, los cuales desempeñan funciones estructurales, de reserva y son precursores de otros componentes lipídicos. Es por esto que en este estudio se determinó el contenido de la composición proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) durante la fase exponencial de las microalgas *Thalassiosira weissflogii*, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* y *Nannochloropsis* sp. Esto con el fin de establecer una equivalencia lipídica entre las especies

de microalgas, la cual servirá para elaborar dietas isolipídicas, que se utilizarán para el enriquecimiento de juveniles de *Artemia franciscana* en futuros experimentos.

HIPÓTESIS

La microalga *Thalassiosira weissflogii* es la especie de mayor tamaño utilizada en este estudio, por lo tanto, esta especie presentará mayor contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos por unidad celular, en comparación a *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* y *Nannochloropsis* sp.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

Identificar la fase de crecimiento exponencial y establecer la equivalencia lipídica entre las microalgas *Thalassiosira weissflogii*, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* y *Nannochloropsis* sp.

- Estimar la densidad celular y tasa de división celular diaria acumulada durante los cultivos experimentales de las cuatro especies de microalgas.
- Evaluar el peso seco, peso orgánico y composición proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) durante la fase de crecimiento exponencial de las microalgas analizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos preliminares del presente estudio se llevaron a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos y Cultivos de Apoyo, de la Facultad de Ciencias del Mar. Se realizaron cultivos experimentales de las cuatro especies de microalgas: *Thalassiosira weissflogii*, *Chaetoceros muelleri*, *Tetraselmis suecica* y *Nannochloropsis* sp. (claves: TH-W-1, CH-M-1, TE-S-1 y NN-X-1, respectivamente). Dichos cultivos se realizaron en agua de mar filtrada hasta 1 µm. La preparación del medio F se hizo de acuerdo a la formulación de Guillard y Ryther (1962) empleándose la metodología descrita en Voltolina *et al.* (1989). Durante los cultivos se mantuvieron las siguientes condiciones: 25 °C, 35 ups y una intensidad luminosa de 6000 luxes. Se realizaron inóculos de los cultivos de las distintas especies de microalgas, utilizando la técnica de transferencias sucesivas (Zazueta-Patrón, 2016) y posteriormente se tomaron muestras cada 24 horas para medición de densidad óptica, pH, densidad celular y tasa de división celular diaria acumulada. En la fase final del crecimiento exponencial de los cultivos, se tomaron muestras de volumen y densidad celular conocidos, para determinar PS, PO, cenizas y la composición proximal de las microalgas.

Para la determinación del PS y PO se utilizaron filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/C de 47 mm). Ya que las muestras se concentraron en los filtros, estos fueron lavados con formiato de amonio y se colocaron en una estufa a 60 °C por 48 horas. Después, se pesaron cada 24 horas hasta obtener un peso constante, y finalmente se calcinaron a 450 °C durante 8 horas en una

mufla, y se pesaron hasta obtener el peso constante, que corresponde a la cantidad de cenizas (Sorokin, 1973).

La composición proximal de las microalgas se determinó en términos de proteínas, carbohidratos y lípidos. La concentración de proteínas se determinó con el método de Lowry *et al.* (1951), mientras que la extracción de carbohidratos se realizó de acuerdo a Whyte (1987) y su cuantificación con el procedimiento descrito por Dubois *et al.* (1956). En el caso de lípidos totales, la extracción se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Bligh y Dyer (1959) y su cuantificación por el método de Pande *et al.* (1963). Los porcentajes de la composición proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) se determinaron respecto a la composición orgánica total. Finalmente, se realizó la equivalencia lipídica entre las cuatro especies de microalgas, tomando como referencia a *T. weissflogii*, que es la microalga de mayor tamaño.

A los datos obtenidos de las distintas variables, primeramente, se les aplicaron las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y homocedasticidad de Levene (Zar, 1999). Para la comparación de los distintos parámetros (PS, PO y composición proximal) entre especies de microalgas por día de muestreo, se realizó un análisis de varianza de una vía para datos paramétricos o un Kruskal-Wallis para datos no paramétricos cuando no se cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Cuando los análisis revelaron la existencia de diferencias significativas, se efectuó la prueba de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls (SNK). Todos los análisis estadísticos se hicieron en los programas SigmaStat 3.5 y Statistica10, con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cultivos preliminares de las microalgas TH-W-1, CH-M-1, TE-S-1 y NN-X-1 tuvieron una duración de 10, 7, 7 y 15 días, respectivamente (Fig. 1). En el caso de TH-W-1 el cultivo se inició con una densidad celular de 10, 000 cel/mL, la cual fue aumentando hasta alcanzar un máximo de 398, 438 cel/mL el día 3 (Fig. 1a). Para CH-M-1, el inóculo inicial fue de 200, 000 cel/mL y alcanzó su densidad celular máxima el día 3 con 567, 188 cel/mL (Fig. 1b). Los cultivos de TE-S-1 (Fig. 1c) se iniciaron con una concentración de 25, 000 cel/mL y la densidad celular fue aumentando progresivamente hasta llegar a 1, 438, 438 cel/mL el día 4. Finalmente, para NN-X-1 (Fig. 1d) se inició el cultivo con una densidad de 300, 000 cel/mL y para el día 13 alcanzó una concentración celular máxima de 54, 140, 625 cel/mL. Las densidades celulares obtenidas en este estudio fueron más altas para TH-W-1 y CH-M-1 que las encontradas por Piña *et al.* (2007), mientras que para TE-S-1, las concentraciones celulares fueron similares en ambos estudios. En el caso de NN-X-1 la densidad celular fue menor a la reportada por Zazueta-Patrón (2016).

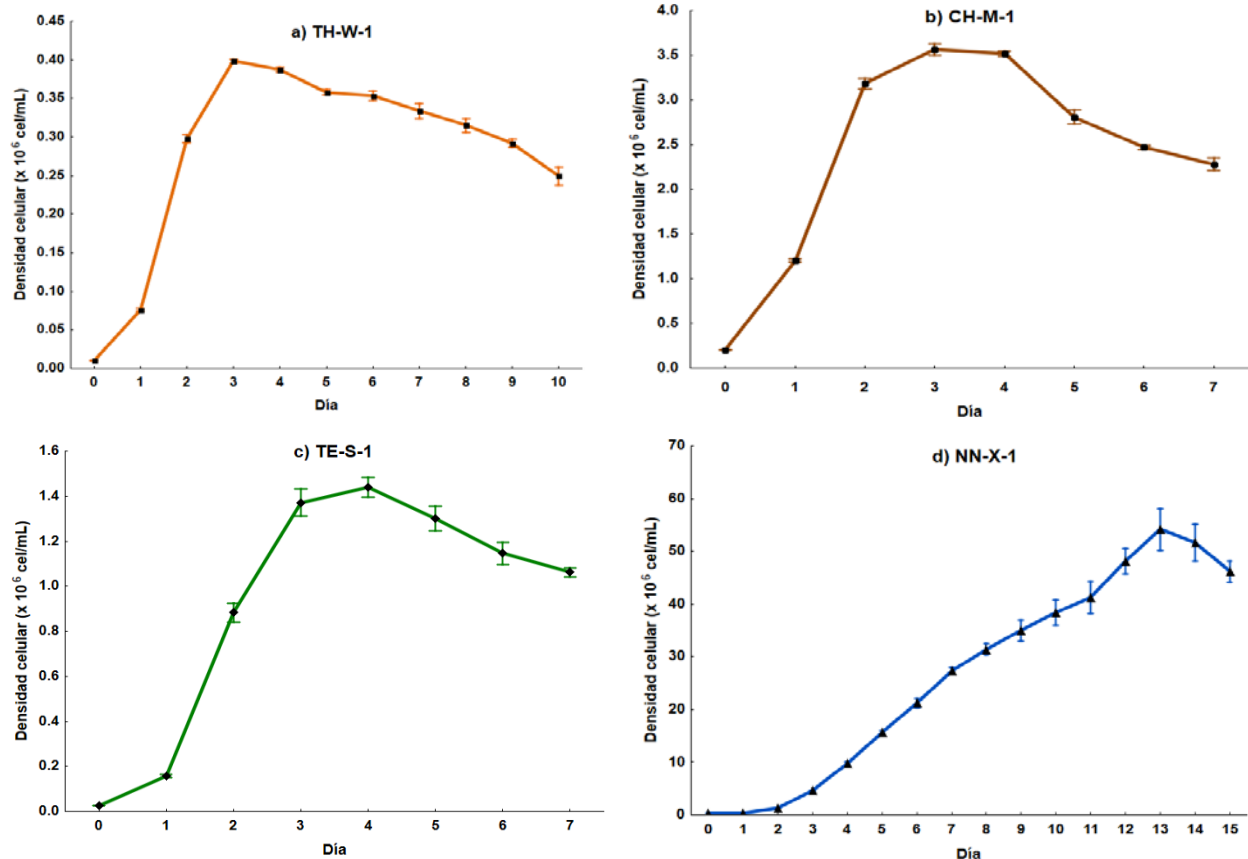


Fig. 1. Densidad celular promedio ($\times 10^6$ cel/mL) y error estándar de las microalgas *T. weissflogii* (TH-W-1), *C. muelleri* (CH-M-1), *T. suecica* (TE-S-1) y *Nannochloropsis* sp. (NN-X-1) durante su fase de crecimiento.

La microalga NN-X-1 fue la especie que tuvo el mayor número de divisiones celulares, alcanzando una tasa de división diaria acumulada ($\sum\mu$) de 7.5. Por su parte, TH-W-1 y TE-S-1 registraron tasas de división celular similares, de 5.3 y 5.8, respectivamente. Por último, las divisiones celulares de CH-M-1 fueron menores a las registradas por las otras especies, logrando un máximo de 4.2 divisiones. Las $\sum\mu$ más altas obtenidas en estudio para las microalgas TE-S-1 y NN-X-1 fueron similares a las reportadas por Zazueta-Patrón (2016), quien obtuvo valores de $\sum\mu$ cercanos a 5 y a 8 para dichas microalgas. De igual forma, los resultados de $\sum\mu$ para las microalgas TH-W-1 y CH-M-1 concuerdan con lo registrado por Piña *et al.* (2007), quienes obtuvieron valores de 5.3 y 4.5 para estas mismas especies.

Por otra parte, los valores de pH para las distintas especies de microalgas estuvieron entre 7.9 y 10.4. Los valores de pH de este estudio para las microalgas CH-M-1, TH-W-1 y TE-S-1 fueron similares a los encontrados por Piña *et al.* (2007), para estas mismas microalgas. Igualmente, los resultados de pH para NN-X-1 y TE-S-1 concuerdan con lo reportado por Zazueta-Patrón (2016).

En relación a la producción de biomasa seca y orgánica celular durante la fase exponencial, los valores de TH-W-1 para PS (300.87 – 461.00 pg/cel) y PO (213.39 – 343.14 pg/cel) fueron significativamente superiores en comparación al resto de las microalgas (Tabla 1). Mientras que

los valores más bajos se registraron en NN-X-1. Estos resultados son reflejo del tamaño de las células de estas microalgas, debido a que TH-W-1 y NN-X-1 son las especies de mayor (15-20 μm de diámetro) y menor (1.5 a 2.7 μm de diámetro) tamaño, respectivamente, usadas en este trabajo. Por otra parte, los resultados del PS y PO obtenidos en esta investigación son inferiores a lo reportado por Piña *et al.* (2007) para las microalgas CH-M-1, TH-W-1 y TE-S-1. Pero para el caso de NN-X-1, los valores fueron similares a los encontrados por Rojo-Cebreros *et al.* (2012) para esta especie.

Tabla 1. Valores promedio y error estándar del peso seco y peso orgánico en pg/cel de las microalgas *T. weissflogii* (TH-W-1), *C. muelleri* (CH-M-1), *T. suecica* (TE-S-1) y *Nannochloropsis* sp. (NN-X-1).

PESO SECO				
MUESTREO	TH-W-1	CH-M-1	TE-S-1	NN-X-1
1*	300.87 ^c ±7.09	76.98 ^b ±1.85	78.80 ^b ±7.26	7.68 ^a ±0.23
2*	366.64 ^c ±3.44	77.29 ^b ±2.66	65.50 ^b ±3.66	7.31 ^a ±0.13
3*	461.00 ^c ±4.83	74.22 ^b ±2.52	75.82 ^b ±2.89	6.79 ^a ±0.07
PESO ORGÁNICO				
1*	213.39 ^c ±5.28	49.06 ^b ±0.54	57.07 ^b ±4.29	7.00 ^a ±0.02
2*	255.32 ^c ±4.98	50.10 ^b ±1.15	52.93 ^b ±1.84	6.22 ^a ±0.10
3*	343.14 ^d ±6.20	50.51 ^b ±0.69	62.35 ^c ±1.81	6.08 ^a ±0.05

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre las especies por día de muestreo ($P < 0.05$). * prueba no paramétrica.

Respecto a los resultados de la composición proximal, se observó que al igual que para la biomasa, las concentraciones de proteínas, carbohidratos y lípidos fueron significativamente superiores en TH-W-1 (Tabla 2). Además, se observó que la microalga TH-W-1 mostró una notable tendencia a aumentar la concentración de la composición proximal conforme los días de cultivo. Mientras que las otras microalgas no mostraron esta tendencia. Los resultados de proteínas obtenidos en este estudio para TH-W-1, CH-M-1 y TE-S-1 fueron menores, en comparación a las concentraciones registradas por Piña *et al.* (2007) para estas especies. En tanto que, para carbohidratos y lípidos, los valores obtenidos en ambos estudios fueron similares. En el caso de NN-X-1, las concentraciones registradas por Martínez-Brown (2001) fueron similares a las encontradas en esta investigación.

Tabla 2. Valores promedio y error estándar de proteínas, carbohidratos y lípidos en pg/cel de las microalgas *T. weissflogii* (TH-W-1), *C. muelleri* (CH-M-1), *T. suecica* (TE-S-1) y *Nannochloropsis* sp. (NN-X-1).

PROTEÍNAS				
MUESTREO	TH-W-1	CH-M-1	TE-S-1	NN-X-1
1*	82.69 ^d ±7.23	18.49 ^b ±1.61	26.46 ^c ±1.25	2.45 ^a ±0.15

2	93.99 ^d ±0.77	17.73 ^b ±0.93	26.36 ^c ±2.17	2.15 ^a ±0.05
3*	122.99 ^d ±3.86	20.16 ^b ±0.74	35.62 ^c ±1.95	1.95 ^a ±0.04
CARBOHIDRATOS				
1*	100.18 ^d ±4.06	5.99 ^b ±0.26	17.92 ^c ±2.55	1.09 ^a ±0.03
2*	111.85 ^d ±4.76	5.31 ^b ±0.10	17.73 ^c ±0.52	1.01 ^a ±0.03
3*	159.70 ^d ±7.04	5.74 ^b ±0.24	21.07 ^c ±0.72	0.95 ^a ±0.01
LÍPIDOS				
1*	149.03 ^d ±4.79	12.84 ^b ±0.12	25.26 ^c ±1.21	2.44 ^a ±0.06
2*	161.99 ^d ±6.33	13.69 ^b ±0.28	25.78 ^c ±0.97	2.12 ^a ±0.12
3*	179.81 ^d ±6.13	17.12 ^b ±0.64	27.59 ^c ±0.30	1.92 ^a ±0.06

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre las especies por día de muestreo ($P < 0.05$). * prueba no paramétrica.

En cuanto al porcentaje de proteínas, los valores encontrados en CH-M-1 (46.82 - 49.27%) fueron significativamente superiores, respecto al resto de microalgas (Tabla 3). Sin embargo, TH-W-1 registró el máximo contenido de carbohidratos (30.22 - 34.49%), así como también de lípidos (38.90 - 44.99%), siendo estos, significativamente superiores en comparación a las otras microalgas. Los porcentajes de lípidos para TH-W-1 de este estudio, fueron superiores a los encontrados por Vázquez-Suárez *et al.* (2013), quien utilizó la microalga *T. pseudonana*. No obstante, los valores de carbohidratos fueron inferiores a los obtenidos por este autor. Para CH-M-1, los porcentajes obtenidos para los 3 componentes, fueron mayores a lo registrado por Pacheco-Vega (2010), quien también utilizó el medio F como solución nutritiva.

Asimismo, los porcentajes obtenidos de carbohidratos y lípidos para TE-S-1 en el presente trabajo fueron mayores a los encontrados por Zazueta-Patrón (2016), pero inferiores en el caso de las proteínas. En tanto que para NN-X-1, el porcentaje de proteínas fue similar, pero el contenido lipídico fue mayor al registrado por este mismo autor.

Tabla 3. Porcentajes de proteínas, carbohidratos y lípidos presentes en las microalgas *T. weissflogii* (TH-W-1), *C. muelleri* (CH-M-1), *T. suecica* (TE-S-1) y *Nannochloropsis* sp. (NN-X-1).

PROTEÍNAS				
MUESTREO	TH-W-1	CH-M-1	TE-S-1	NN-X-1
1	24.79 ^a ±1.30	49.27 ^c ±1.95	38.22 ^b ±1.43	40.85 ^b ±1.57
2	25.57 ^a ±0.35	48.19 ^d ±0.88	37.57 ^b ±1.54	40.68 ^c ±0.63
3	26.62 ^a ±0.95	46.82 ^c ±0.72	42.18 ^b ±1.44	40.43 ^b ±0.45
CARBOHIDRATOS				
1*	30.22 ^d ±0.84	16.09 ^a ±0.59	25.35 ^c ±2.00	18.26 ^b ±0.33
2	30.41 ^d ±1.20	14.48 ^a ±0.31	25.43 ^c ±0.41	19.20 ^b ±0.68

3*	34.49 ^d ±0.93	13.41 ^a ±0.87	25.01 ^c ±0.74	19.74 ^b ±0.18
LÍPIDOS				
1	44.99 ^c ±1.37	34.64 ^a ±1.51	36.43 ^a ±0.79	40.89 ^b ±1.43
2	44.02 ^b ±1.38	37.33 ^a ±0.67	37.00 ^a ±1.26	40.12 ^a ±1.21
3	38.90 ^b ±1.37	39.77 ^b ±0.74	32.80 ^a ±0.88	39.82 ^b ±0.47

Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre las especies por día de muestreo ($P < 0.05$). * prueba no paramétrica.

La fase de crecimiento exponencial de las cuatro especies de microalgas se encontró durante el primer muestreo realizado, es por ello que se seleccionaron los valores de lípidos de ese momento para realizar la equivalencia lipídica. Cabe señalar que el mayor contenido de lípidos, como se mencionó anteriormente, fue encontrado en la microalga TH-W-1. Es por ello que este valor (149.03±4.79 pg/cel) fue tomado como referencia para este fin. De manera que para igualar la concentración de lípidos que tiene una célula de TH-W-1, se necesitan un total de 11.61, 5.90 y 61.08 células de las microalgas CH-M-1, TE-S-1 y NN-X-1, respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Equivalencia lipídica entre las microalgas TH-W-1, CH-M-1, TE-S-1 y NN-X-, tomado como referencia la cantidad de lípidos de una célula de TH-W-1.

Lípidos en pg/cel	Número equivalente de células			
	TH-W-1	CH-M-1	TE-S-1	NN-X-1
149.03	1	11.61	5.90	61.08

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos, se determinó que la microalga *Nannochloropsis* sp. fue la que presentó la mayor densidad celular, así como la mayor tasa de división celular acumulada. Por el contrario, *T. weissflogii* fue la que registró la menor densidad celular. Todas las especies mostraron una tendencia a aumentar el pH conforme avanzaban los días y, cuando entraron a la fase estacionaria, el pH empezó a disminuir. *T. weissflogii* fue la especie que registró los valores más altos de peso seco y peso orgánico celular en cada uno de los días analizados. Respecto a la composición proximal por célula, las concentraciones de proteínas, carbohidratos y lípidos encontradas en *T. weissflogii* fueron significativamente superiores al resto de las microalgas. Sin embargo, en términos de porcentaje respecto a la materia orgánica, *C. muelleri* fue la que registró los valores más altos de proteínas. Las proteínas y los lípidos fueron los compuestos más abundantes en las microalgas analizadas, mientras que los carbohidratos fueron los que se encontraron en menor proporción. Finalmente, se estableció que, en relación al contenido de lípidos, 11.61, 5.90 y 61.08 células de las microalgas CH-M-1, TE-S-1 y NN-X-1, respectivamente, equivalen a una célula de TH-W-1.

LITERATURA CITADA

- Bligh, E. G. y Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37(8): 911–917. DOI: [10.1139/o59-099](https://doi.org/10.1139/o59-099).
- Cho, S., Ji, S., Hur, S., Bae, J., Park, I., Song, Y. 2007. Optimum temperatura and salinity conditions for growth of green algae *Chlorella ellipsoidea* and *Nannochloris oculata*. *Fish. Sci.* 73, 1050-1056. ISSN: 1444-2906; DOI: 10.1111/j.1444-2906.2007.01435.x.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. 1956. Colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350–356. ISSN: 0003-2700; DOI: 10.1021/ac60111a017
- Guevara-Acosta, M. A. 2011. Optimización de las condiciones de cultivo y mejoramiento genético como estrategias para incrementar el valor nutricional de *Rhodomonas salina* (Wislouch) Hill y Wetherbee (1989) (Cryptophyta) como alimento para la acuicultura. Tesis de doctorado.
- Guillard, R. R. L. y Ryther, J. H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms, I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) *Revista de Microbiología.*, 8: 229-325. ISSN: 1678-9881; DOI: [10.1139/m62-029](https://doi.org/10.1139/m62-029).
- Hernández, A. y Labbé, J. 2014. Microalgas, cultivos y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 49(2):157-173. ISSN 0718-1957; DOI: 10.4067/S0718-19572014000200001.
- Ho, S. H., Chen, C. H., Lee, D. J. y Chang, J. S. 2011. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems -A review. *Biotechnology Advances*. 29(2):189-198. ISSN: 0734-9750; DOI: [10.1016/j.biotechadv.2010.11.001](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.11.001).
- Lowry, O.H., Rosebrough, J., Farr, A.L., Randall, R. L. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193(1): 265–275. ISSN: 1083-351X. <http://www.jbc.org/content/193/1/265.long>
- Martínez-Brown, J. M. 2001. Cultivo de *Nannochloropsis* sp. con tres productos de naturaleza zeolítica, para la alimentación del rotífero *Brachionus plicatilis* Miller. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias del Mar.
- Mendoza, H., de la Jara, A. y Portillo, E. 2011. Planta piloto de cultivo de microalgas: Desarrollo potencial de nuevas actividades económicas asociadas a la biotecnología en Canarias, 60 pp. Instituto Tecnológico de Canarias, Santa Cruz de Tenerife. ISBN: 978-84-691-5866-1.
- Pacheco-Vega, J. M. 2010. Evaluación de la producción de ácidos grasos altamente insaturados de la microalga *Chaetoceros muelleri* por efecto de la concentración y el tipo de nutrientes en el medio de cultivo y su efecto en zoeas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Posgrado en Ciencias Marinas y Costeras.
- Pande, S. V., Khan, R. P., Venkatasubramanian, T. A. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. *Analytical Biochemistry*. 6: 415–423. ISSN: 0003-2697; DOI: [10.1016/0003-2697\(63\)90094-0](https://doi.org/10.1016/0003-2697(63)90094-0).
- Piña, P., Medina, M., Nieves, M., Leal, S., López-Elías, J. y Guerrero, M. 2007. Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. *Revista de*

Investigaciones Marinas. 28 (3): 225-236. ISSN: 1991-6086.

www.rim.uh.cu/index.php/RIM/article/download/101/101.

Rojo-Cebreros, A. H., Román-Reyes, J. C., Rodríguez-Montes de Oca, G. A., Nieves-Soto, M., Piña-Valdez, P. y Medina-Jasso, M. A. 2012. Balance energético del rotífero *Brachionus rotundiformis* tschugunoff 1921, alimentado con cuatro especies de microalgas. 28 (3): 231-244. ISSN: 0186-2979. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-29792012000300003.

Sharma, K., Schuhmann, H. y Schenk, P. 2012. High lipid induction in microalgae for biodiesel production. *Energies*. 5(5):1532-1553. ISSN: 1996-1073; DOI: 10.3390/en5051532.

Solovchenko, A. E. 2012. Physiological role of neutral lipid accumulation in eukaryotic microalgae under stresses. *Russian Journal of Plant Physiology*. 59 (2) 167-176. ISSN: 1021-4437; DOI: 10.1134/S1021443712020161.

Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. 321-343. En: Stein J. (Ed.). *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurement*. Cambridge University, Press, Cambridge, 448 pp. ISBN: 05-212-9747-8.

Vásquez-Suárez, A., Guevara, M., González, M., Cortez, R. y Arredondo-Vega, B. 2013. Crecimiento y composición bioquímica de *Thalassiosira pseudonana* (Thalassiosirales: Thalassiosiraceae) bajo cultivo semi-continuo en diferentes medios y niveles de irradiancias. *Revista de biología tropical*. Vol. 61 (3): 1003-1013. ISSN-0034-7744; www.redalyc.org/articulo.oa?id=44930116002.

Voltolina, D., Bückle-Ramírez, L. F., Morales-Guerrero, E. L. 1989. *Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas (2ª Ed.)* Centro de Investigación Científica y de educación Superior de Ensenada, B.C., México. Informe Especial OC-89-01, 67 pp.

Whyte, J. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*. 60: 231-241. ISSN: 0044-8486; DOI: [10.1016/0044-8486\(87\)90290-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90290-0).

Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4th ed. Prentice Hall. New jersey, USA. 663 pp.

Zazueta-Patrón, I. E. 2016. Tesis de maestría: Crecimiento, Biomasa y Composición Proximal de Microalgas Cultivadas en Medios Limitantes de Nitrógeno. Posgrado: Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa (FACIMAR-UAS). Mazatlán, Sinaloa, México.

EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA FORESTAL Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS DE LOS MANGLARES EN BOCA DE CAMICHÍN, MARISMAS NACIONALES

María Luisa Ordoñez Rosas^{1,2}, Mercedes Marlenne Manzano Sarabia², Francisco Flores Cárdenas², Joanna Acosta Velázquez³, Lidia Esther Rodríguez Arredondo².

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. m.ordonezr.facimar@uas.edu.mx

²Laboratorio de Ecosistemas y Variabilidad Climática, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

³ Fondo Noroeste, A.C.

INTRODUCCIÓN

Los manglares son árboles o arbustos integrados por más de cincuenta especies, los cuales pueden alcanzar una altura de 50 m (López y Ezcurra, 2002), presentan diferente tolerancia a la salinidad del agua y conforman ecosistemas en la transición tierra-mar. Estos humedales son reconocidos por su riqueza natural, los servicios ambientales que proveen, así como su valor ecológico y económico (Castillo *et al.*, 2017). Entre los servicios más destacados que ofrecen se encuentran los recursos pesqueros, el filtrado de aguas residuales, protección contra tormentas y áreas de crianza para múltiples especies costeras, asimismo actúan como sumideros de carbono, fijación de nitrógeno en el suelo, servicios estéticos que permiten diferentes actividades recreativas (Sanjurjo y Welsh, 2005).

México cuenta con 775, 555 ha de manglar (Valderrama *et al.*, 2017), las especies más predominantes en México son *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia germinans* y *Conocarpus erectus*, los cuales se encuentran bajo la categoría de amenazadas por la normatividad vigente (Norma NOM-059-SEMARNAT-2010), mientras que las especies *Avicennia bicolor* y *Rhizophora harrisonii* también se encuentran en el país pero con una distribución muy restringida en los Estados de Chiapas y Oaxaca (Valderrama *et al.*, 2017). A pesar de que en México predominan pocas especies de manglar hay una gran variabilidad en su composición, estructura y función a nivel local y regional debido a las diferencias de temperatura, salinidad, precipitación, características del sustrato, relieve y grado de inundación (Castillo *et al.*, 2017).

Nayarit cuenta con una cobertura de manglar de 67,096 ha, de las cuales 6, 016 ha se encuentran en estado perturbado, siendo la entidad con mayor cobertura de manglar perturbado junto con Campeche (2,067 ha), Sinaloa (1,851 ha) y Veracruz (1,740 ha) (Valderrama *et al.*, 2017).

Los ecosistemas de manglar son vulnerables a los efectos de la variabilidad climática, e.g. cambios en los patrones estacionales e interanuales en la temperatura, incremento en el nivel del mar, cambios en el CO₂, aumento en la precipitación pluvial, inundaciones y sequías (Yáñez *et al.*, 2014), así como por diferentes actividades humanas como la agricultura, ganadería, acuicultura, desarrollo urbano, industrial y turístico. Estas actividades han provocado el desplazamiento y reducción de grandes extensiones de manglar, afectando considerablemente a las especies que utilizan este ecosistema en su ciclo biológico (Rodríguez *et al.*, 2013).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de que en México se han realizado varios estudios sobre estructura de manglar utilizando diferentes métodos, la zona de Boca de Camichín es un área poco estudiada respecto a la estructura de manglar y los servicios ecosistémicos que provee, por lo que la presente investigación proveerá información actualizada para diferentes sectores, incluyendo el Sistema Nacional de Monitoreo de Manglares.

HIPÓTESIS

La estructura forestal y los servicios ecosistémicos de las comunidades de manglar de la Boca de Camichín serán diferentes entre zonas, debido a las diferencias ambientales y al grado de fragmentación del ecosistema.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la estructura forestal y los servicios ecosistémicos de comunidades de manglar en cuatro parcelas establecidas en la Boca de Camichín, Nayarit.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la estructura forestal del manglar en cuatro parcelas de muestreo fijas (20 x 20 m) en Boca de Camichín, Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales, Nayarit.
- Identificar los servicios de provisión, regulación, culturales y de soporte que proporciona las comunidades de manglar en Boca de Camichín.
- Cuantificar del carbono orgánico, nitrógeno total y fósforo total en suelos de 4 parcelas de monitoreo de manglar.
- Identificar las diferentes actividades económicas que se realizan en la Boca de Camichín, Nayarit en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales.
- Identificar las principales amenazas que presentan los servicios ecosistémicos en la Boca de Camichín, Nayarit en la Reserva de la Biósfera Marismas Nacionales.
- Determinar la extensión de la pluma de turbidez del río San Pedro-Mezquital

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estero Camichín es un sistema de 2,094.5 ha localizado al sur del Estado de Nayarit, en la parte Noroeste de México, y se encuentra dentro del complejo de humedales de Marismas Nacionales en Nayarit (Blanco *et al.*, 2011). El estero se ubica en la boca de la desembocadura del río San Pedro-Mezquital, siendo este río su principal afluente de agua dulce, mientras que el aporte de agua marina es a través de la boca de Camichín y La Talega (Bojórquez *et al.*, 2004). En esta zona el agua presenta una salinidad muy variable que va desde < 1 a 35 ups y una temperatura entre 21 y 28°C (Bojórquez *et al.*, 2004), presenta una precipitación anual de 818 mm y una escorrentía superficial de 8,299 hm³ (CONAGUA, 2012).

Estructura forestal

Se analizarán cuatro unidades permanentes de muestreo de 20 x 20 m. Se utilizará el método modificado propuesto por Valdez (2002). La caracterización por tipos de manglar presentes en los sitios de estudio con base en las características fisonómicas se realizará de acuerdo a Lugo y Snedaker (1974).

- Diámetro a la altura del pecho (DAP₁₃₀)

Esta variable se medirá a una altura de 130 cm (DAP₁₃₀) de los tallos de los árboles con una cinta diamétrica.

- Altura total del arbolado
- Altura de la raíz

Este atributo será medido solamente en *Rhizophora mangle*.

- Altura fuste limpio

Distancia que existe a partir de la base del árbol hasta la base de la copa, es decir el fuste libre de ramas.

- Área basal (AB)

Representa el área en m² que ocupa la sección transversal del conjunto de árboles de un rodal que se distribuyen en una hectárea.

- Densidad (fustes/ha) = Número total de fustes/
área total muestreada X 10,000
- Índice de Valor de importancia

Índice de Valor de Importancia = Densidad relativa + Frecuencia relativa + Dominancia relativa de la especie *i*, donde:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{\text{Densidad de la especie } i}{\text{Densidad total}} \times 100$$

$$\text{Frecuencia relativa} = \frac{\text{Frecuencia de especies } i}{\sum \text{Frecuencia de todas las especies}} \times 100$$

$$\text{Dominancia relativa} = \frac{\text{Área basal de la especie } i}{\sum \text{Área basal de todas las especies}} \times 100$$

- Índice de complejidad de Holdridge (ICH):

$$\text{ICH} = (d)(a)(h)(s)/10000$$

d= Número de individuos ha⁻¹, s= Número de especies, h= Altura del rodal (m), a= Área basal (m² ha⁻¹)

- Diámetro promedio de la copa

Se medirá el eje mayor y menor, donde el promedio de estas dos mediciones se será como el diámetro de copa (Cintron y Shaeffer-Novelli, 1984).

- Clase de corona

El tipo de corona se clasificará como dominante, co-dominante, intermedia, suprimida o en su defecto, se indicará si se trata de individuos tipo arbustivo.

- Frecuencia de tallas

La frecuencia de tallas se determinará a partir de la regla de Sturges (Zar, 1996):

$K = 1 + 3.322 (\text{Log}_{10} \cdot n)$. Para determinar la amplitud de la clase: $C = I / K$ donde: I= Intervalo de clase= (Valor mayor – valor menor) y n= número de individuos.

- Regeneración potencial:

Para determinar la regeneración potencial, se seguirá el protocolo de López-Portillo (2012), considerando como plántulas a los individuos que presenten una altura menor a 0.5 m, y juveniles a aquellos que registren una altura igual o mayor a 0.5 m y un diámetro menor a 2.5 cm. Los atributos que se medirán son densidad y altura.

Densidad: se contarán todos los organismos (plántulas y juveniles) presentes dentro de los cuadrantes y serán expresados por unidad de área.

Altura: La altura se medirá con una cinta métrica y/o hipsómetro Nikon Forestry 550.

- Extracción:

Se anotarán las características de las extracciones observadas en las unidades de muestreo (especie y el diámetro a la altura del corte).

- Mortalidad:

Se registrará la especie, DAP₁₃₀ y causa de muerte cuando sea posible.

Sedimentos

Como parte de la iniciativa para estudios de carbono azul implementada por la CONABIO, se seguirá la metodología propuesta, (modificada de Kauffman, *et al.*, 2011).

Se localizarán dos puntos dentro de la parcela de forma aleatoria y con una separación entre ambos puntos de mínimo 5 metros. Uno de estos puntos será el principal (P) y el otro el testigo (T). Se limpiará el área donde será tomada la muestra, posteriormente será introducido el nucleador en el suelo en su totalidad o hasta topar con el material parental. Después de extraer el núcleo, éste se colocará en una superficie horizontal. Se procederá a limpiar todo el perfil con la ayuda de una espátula. Se eliminará toda muestra que rebase al cilindro semicircular del nucleador. Posteriormente se procederá a medir los intervalos de profundidad en el perfil (0-15, 15-30, 30-50, 50 - 100 cm) y a obtener submuestras de 3 cm de espesor, idealmente a la mitad de cada intervalo. Las muestras serán guardadas y etiquetadas en una bolsa plástica (con cierre hermético) y refrigeradas a 4 °C o congeladas hasta el momento de su envío al laboratorio.

Producción de hojarasca

Para determinar el ciclo de producción de hojarasca del manglar, se seguirá la metodología de recolección *in situ* colocando canastas con un área de 0.25 m² (López-Portillo y Ezcurra, 1985; Arreola *et al.*, 2004; Félix *et al.*, 2006; Agraz-Hernández *et al.*, 2011). En cada sitio de estudio se colocarán 3 canastas, las cuales se construirán con tubos de PVC para elaborar el marco (0.5 m x 0.5 m) y fondo con malla de polietileno de 1 mm² de abertura. Las muestras de material foliar se guardarán en bolsas de plástico etiquetadas para ser transportadas al laboratorio. Para cada una de las muestras de hojarasca se realizará la separación de los componentes de hojarasca (hoja, rama, flor y propágulo) y serán colocadas en charolas de aluminio y posteriormente en una estufa de convección a una temperatura de 75°C por 48 horas o hasta obtener un peso constante, que es obtenido por separado en una balanza analítica (OHAUS, Scout II). Los datos se expresarán en g m² d⁻¹ teniendo en cuenta el peso seco, el área de cada trampa y el número de días transcurridos entre cada recolección (Félix, 2006). Se integrará la información en los formatos establecidos y se elaborarán gráficas comparativas.

Pluma de turbidez

Para determinar el área de la pluma de turbidez se utilizará el sensor MODIS (Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer) en su versión Aqua, (imágenes de 250m de resolución).

LITERATURA CITADA

- Agraz H. C. M., García Z. C., Iriarte V. S., Flores V. F. J. y P. Moreno C. P. 2011. Forest structure, productivity and species phenology of mangroves in the La Mancha lagoon in the Atlantic coast of Mexico. *Wetlands Ecology and Management*, 19(3): 273-293.
- Arreola L. A., Flores V. F. J. y Ortega R. A. 2004. Structure and litterfall of an arid mangrove stand on the Gulf of California, Mexico. *Aquatic Botany*, 79 (2): 137-143.
- Blanco M. y Correa M. (Ed.), Flores V. F., Ortiz P. M., de la Lanza E. G., López P. J., Valdéz H. I., Agraz H. C., Czitrom S., Evelia Rivera A. E., Orozco A., Jiménez R. G., Benítez P. D., Gómez G. J., González D. A., Soria B. M., Otis K. G., Jacobo S. E., López C. G., Blanco F. H. y Blanco F. 2011. Diagnóstico Funcional de Marismas Nacionales. Informe final de los convenios de coordinación entre la Universidad Autónoma de Nayarit y la Comisión Nacional Forestal con el patrocinio del Gobierno del Reino Unido, Tepic, Nayarit. 190 páginas, 84 mapas + 1 DVD.
- Bojórquez S. J., Nájera G. O., Marceleño F. S., Gozález F. R., Romero B. C., y Cupul M. F. 2004. Marismas Nacionales: Hacia la creación de un área protegida. Universidad Autónoma de Nayarit, 144p.
- Castillo E. B., Gervacio J. H. y Bedolla S. R. 2017. Estructura forestal de una zona de manglar en la laguna de Coyuca de Benítez, Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* Vol. 9 (45).
- Cintron G.M., Y. Schaeffer N. 1984. Methods for studying mangrove structure. In: *The mangrove Ecosystem: research methods. Monographs on Oceanographic Methodology*, 8: 91-113.
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2012. Atlas Digital del Agua México. Sistema Nacional de Información del Agua (2012). <http://www.conagua.gob.mx/atlas/ciclo09.html>
- Félix O. E. E., Holguín Q. O. E., Hernández H. A. y Flores V. F. 2006. Mangrove primary production at El Conchalito Estuary in La Paz Bay (Baja California Sur, Mexico). *Ciencias Marinas*, 32: 53-63.
- López P. J., y Ezcurra, E. 2002. Los manglares de México: Una revisión. *Madera y Bosques*, Número especial, 27-51
- López P. J. A., Lara D. A. L., Martínez G. M. C., Hernández S. M., Rodríguez R. M., Ureña A. C., Galán B. R. I., Vásquez V. M. y Sáinz H. E. 2012. Programa regional para la caracterización y el monitoreo de ecosistemas de manglar del Golfo de México y Caribe mexicano: inicio de una red multi-institucional. Veracruz, Instituto de Ecología A.C. Informe final SNIB-CONABIO, proyecto. No. FN007. Ciudad de México.
- Lugo, A.E. y Snedaker S.C. 1974. The ecology of mangroves. *Annual Review of Ecological and Systematics*, 5:39-64.
- Rodríguez Z. M., Troche S. C., Vázquez L. A., Márquez M. J., Vázquez B. B., Valderrama L. L., Velázquez S. S., Cruz L. M., Ressler R., Uribe M. A., Cerdeira E. S., Acosta V. J., Díaz G. J., Jiménez R. R., FueyoMac D. L. y Galindo L. C. 2013. Manglares de México/ Extensión,

distribución y monitoreo. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F. 128 pp.

Sanjurjo E. y Welsh S. 2005. Una descripción del valor de los bienes y servicios ambientales prestados por los manglares. *Gaceta ecológica* 74: 45-74

Valderrama L. L., Rodríguez Z. M., Troche S. C., Velázquez S. S., Villeda C. E., Alcántara M. J., Vázquez B. B., Cruz L. M. y Ressler R. 2017. Manglares de México: actualización y exploración de los datos del sistema de monitoreo 1970/1980–2015. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ciudad de México, 128 pp.

Yáñez A. A., Day W. J., Twilley R. R. y Day H. R. 2014. Manglares: ecosistema centinela frente al cambio climático, Golfo de México. *Madera y Bosques*, vol. 20, núm. especial: 39-75.

Valdez H. 2002. Aprovechamiento forestal de manglares en el estado de Nayarit, Costa Pacífica de México. *Madera y Bosques*, Número especial: 129-145.

CALIDAD DE LUZ EN EL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL PEPINO Y SUS PATÓGENOS FUNGOSOS

Norma Delia Zazueta Torres¹, Felipe Ayala Tafoya², Moisés Gilberto Yáñez Juárez², Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz², Tomas Díaz Valdés², Carlos Alfonso López Orona²
Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias. ¹Agricultura Sustentable y Protegida, Universidad Tecnológica de Culiacán. ²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. E-mail: norma_zazueta2812@hotmail.com

RESUMEN

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Anatomía Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, para conocer la influencia de la calidad de luz sobre el crecimiento de plantas de pepino (*Cucumis sativus*), la severidad de la cenicilla (*Oídium* sp.) y el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* cultivado *in vitro*. Se sembraron semillas de pepino 'Poinsett 76' en charolas de poliestireno de 128 cavidades y cuando las plantas contaron con dos hojas verdaderas se trasplantaron a vasos de poliestireno de 500 mL. Tratamientos consistieron en luz blanca fría, neutra y cálida, emitidas por lámparas fluorescentes, con una densidad de flujo de fotones fotosintéticos (400 a 700 nm) de 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y se establecieron bajo un diseño completamente al azar con 12 repeticiones (plantas) y 10 repeticiones (caja petri). La luz blanca cálida promovió mayor crecimiento de plantas debido al mayor contenido de luz roja (600-700 nm), mientras que la luz blanca fría promovió mayores valores de diámetro de tallo y verdor foliar, con mayor contenido de luz azul (400-500 nm). La proporción de luz roja y azul, obtenida con las lámparas de luz blanca cálida y blanca fría, alteró el desarrollo del hongo, que se reflejó en una menor severidad de la cenicilla, así mismo ocasionó reducción en el crecimiento radial, biomasa y producción de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*.

Palabras claves: *Cucumis sativus*, *Oidium* sp., luz roja, luz azul.

ABSTRACT

The research was carried out in the Laboratory of Physiology and Vegetal Anatomy of the Faculty of Agronomy, Autonomous University of Sinaloa, in Culiacán, Sinaloa, to know the influence of light quality on the growth of cucumber plants (*Cucumis sativus*), severity of the ashtray (*Oidium* sp.) and the growth of *Sclerotium rolfsii* cultivated *in vitro*. Cucumber seeds 'Poinsett 76' were planted in 128-well polystyrene trays and when the plants had two true leaves they were transplanted into 500 ml polystyrene cups. Treatments consisted of cold, neutral and warm white light, emitted by fluorescent lamps, with a flux density of photosynthetic photons (400 to 700 nm) of 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and were established under a completely randomized design with 12 repetitions (plants) and 10 repetitions (petri dish). Warm white light promoted higher plant growth due to the higher red light content (600-700 nm), while cold white light promoted higher values of stem diameter and leaf verdure, with higher blue light content (400-500 nm). The proportion of red and blue light, obtained with cold white and warm white light lamps, altered the development of the fungus, which was reflected in a lower severity of the ashtray, likewise caused reduction in radial growth, biomass and sclerotia production of *Sclerotium rolfsii*.

Keywords: *Cucumis sativus*, *Oidium sp.*, Red light, blue light.

INTRODUCCIÓN

Las especies vegetales tienen la capacidad de responder de diferentes formas a la calidad de la luz, entendida esta como el color o la longitud de onda; a su intensidad, es decir, la densidad del flujo fotónico o irradiancia y a la combinación de ambas (Nguy-Robertson *et al.*, 2015). La calidad de la luz afecta el crecimiento, desarrollo y morfología de las plantas (Fukuda *et al.*, 2008). Las plantas utilizan luz desde 400 hasta 700 nm para realizar la fotosíntesis, conocida como radiación fotosintéticamente activa (RFA o PAR, por sus siglas en inglés) (Martin, 2010). Los órganos fotosintéticos de las plantas (hojas y tallos verdes) absorben más eficientemente los fotones en las franjas azul y roja del espectro de la radiación visible incidente, mientras que la absorción en la franja del verde y del infrarrojo es escasa, y la mayoría de estos fotones se reflejan como radiación difusa (Lazo y Ascencio, 2010).

Por ejemplo, el crecimiento del tallo ha mostrado estar influenciado por la relación R:FR de la luz (Fukuda *et al.*, 1993, 2002). La elongación del tallo en las plantas de tomate se inhibe más bajo luz amarilla (lámparas de sodio) que bajo la luz blanca (lámparas de halógeno) (Fukuda *et al.*, 1993). La forma de la hoja también es influenciada por la calidad de la luz, pues la baja relación R:FR modifica la morfología de hojas del trébol a través de aumentos en el área foliar (Heraut-Bron *et al.*, 2000; 2001). Mientras que en las plántulas de lechuga si el nivel de luz azul es bajo, las hojas se hacen largas y adquieren una forma estrecha (Honecke *et al.*, 1992). También el suministro de luz azul promovió el crecimiento de espinaca, rábano y lechuga bajo luz roja (Yorio *et al.*, 2001). Plántulas de tomate y pimiento crecidas bajo luz azul, sola o en combinación con luz roja, redujeron la altura de tallo (Javanmardi y Shandiz, 2013).

Cada especie vegetal y microorganismo fitopatógeno reacciona en forma diferente a los componentes espectrales del flujo luminoso (Avercheva *et al.*, 2009). Así, en la agricultura protegida las películas que transmiten más luz azul, han mostrado ser más eficaces para suprimir la esporulación de mildius y *Botrytis cinerea* (Reuveni y Raviv, 1992, 1997).

PROBLEMA CIENTÍFICO

La utilización de sistemas de iluminación artificial, con diferente composición espectral, para la producción en ambientes controlados es una oportunidad viable para mejorar los cultivos. Por tal motivo es importante investigar cómo influye el espectro luminoso de lámparas fluorescentes de luz blanca fría, neutra y cálida en el crecimiento de plantas de pepino y sus patógenos fungosos.

HIPÓTESIS

El espectro electromagnético emitido por lámparas fluorescentes de luz blanca fría, neutra y cálida influye diferencialmente en las características del crecimiento de plantas de pepino y sus patógenos fungosos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto que ocasiona la calidad espectral de luz emitida por lámparas fluorescentes sobre el crecimiento de plantas de pepino y esporulación *in vitro* y severidad de sus patógenos fungosos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la influencia calidad de luz sobre la morfología de las plantas de pepino.

Determinar el efecto de la calidad luz emitida por lámparas fluorescentes en la severidad de hongos foliares del cultivo de pepino.

Determinar el crecimiento y esporulación *in vitro* de hongos patógenos del pepino bajo las condiciones luminosas creadas por lámparas fluorescentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Anatomía Vegetal de la Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, México. Se construyeron y utilizaron cámaras de crecimiento de 100 cm de largo por 70 cm de alto y 80 cm de fondo, con malla plástica de 16 x 10 hilos cristalinos por cm² en todos sus lados, con un sistema de iluminación con base en lámparas fluorescentes compactas, tipo espiral, de luz blanca fría, neutra y cálida (Figura 1). En mayo de 2017 se sembraron semillas de pepino 'Poinsett 76' en charolas de poliestireno de 128 cavidades y 15 días después de la siembra, cuando las plantas contaron con dos hojas verdaderas, se trasplantaron a vasos de poliestireno de 500 mL.



Figura 1. Producción de plantas de pepino en cámara de crecimiento con sistema de iluminación de lámparas fluorescentes de luz blanca fría (izquierda), neutra (centro) y cálida (derecha).

Los tratamientos de LBF (6500 K), LBN (4000 K) y LBC (2700 K), fueron ajustados a una intensidad cercana a los $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de RFA (Figura 2B) con un espectrorradiómetro (FieldSpec Pro®VNIR, Analytical Spectral Devices, EE.UU). Para lograr dicho ajuste se utilizaron nueve lámparas por tratamiento, donde el tratamiento de luz blanca fría constó de tres bombillas de 2140 lúmenes (32 W), tres bombillas de 1650 lúmenes (26W) y tres de 1180 lúmenes (20W); el tratamiento de luz blanca neutra constó de nueve lámparas de 1600 lúmenes (23W); y el tratamiento de luz blanca cálida de cuatro focos de 950 lúmenes (15W) y cinco de 2250 lúmenes (32W). La distribución espectral de la luz emitida por las lámparas (Figura 2A) y las cantidades absolutas, relativas y proporcionales de LA, LR y LRL emitidas por las lámparas fluorescentes (Cuadro 1 y la Figura 2B) variaron según el tipo de ellas.

Cuadro 1. Características espectrales de la luz emitida por lámparas fluorescentes compactas, tipo espiral, de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC).

Parámetros/tipo de lámpara	LBF	LBN	LBC
RFA (400-700 nm) ^x	306.40	305.25	294.37
LA (400-500 nm) ^x	84.19	64.87	44.24
LR (600-700 nm) ^x	81.34	100.44	118.03
LRL (700-800 nm) ^x	31.79	33.93	36.28
LA:RFA [(400-500/400-700 nm)*100] ^y	27.48	21.25	15.03
LR:RFA [(600-700/400-700 nm)*100] ^y	26.55	32.90	40.09
LA:LR (400-500/600-700 nm) ^z	1.04	0.65	0.37
LA:LRL (400-500/700-800 nm) ^z	2.65	1.91	1.22
LR:LA (600-700/400-500 nm) ^z	0.97	1.55	2.67
LR:LRL (600-700/700-800 nm) ^z	2.56	2.96	3.25

RFA=radiación fotosintéticamente activa. LA=luz azul. LR=luz roja. LRL=luz roja lejana. Cantidades absolutas^x ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), relativas^y (%) y proporcionales^z (adimensional).

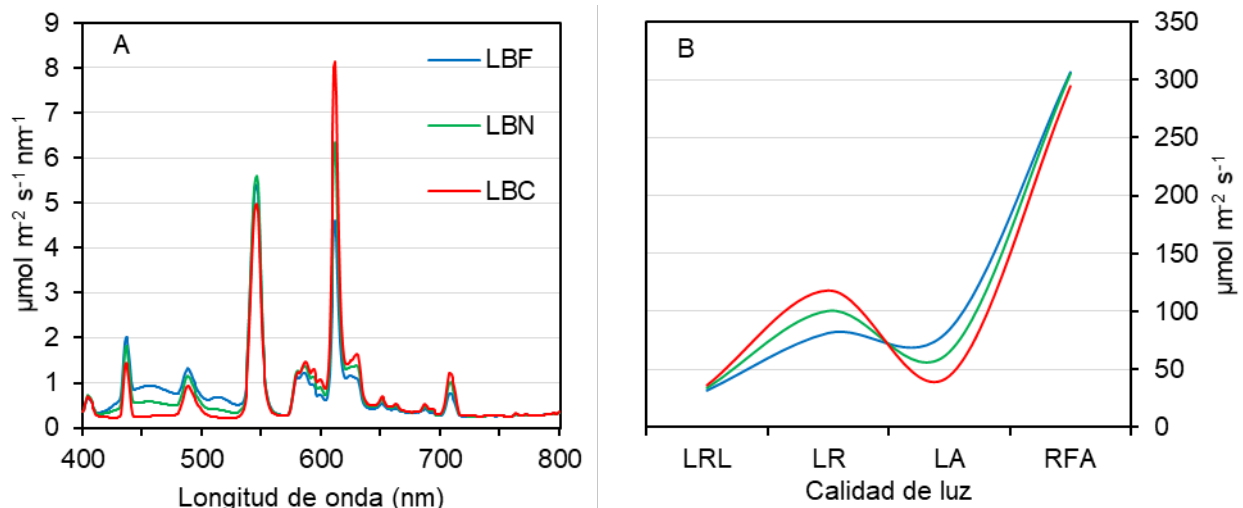


Figura 2. (A) Distribución espectral de la luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC), y (B) cantidad de radiación fotosintéticamente activa (RFA, 400-700 nm), luz azul (LA, 400-500 nm), luz roja (LR, 600-700 nm) y luz roja lejana (LRL, 700-800 nm).

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres tratamientos y 12 repeticiones. Las variables de respuesta evaluadas fueron: altura de planta, medida con cinta métrica; diámetro de tallo, obtenido con calibrador digital (6MP, Truper Herramientas, México); verdor foliar, mediante un clorofilímetro (SPAD 502, Kónica Minolta, Japón); área foliar, obtenida con la fórmula $AF_{hoja} = (\text{Largo} \times \text{Ancho}) \times 0.851$, propuesta por Blanco y Follegati (2003); biomasa fresca y seca de hojas, tallo y raíz de las plantas, mediante balanza de precisión (CP622, Sartorius, Alemania), previo secado en horno (292, Felisa, México) a 70 °C, hasta peso seco constante.

La severidad de la cenicilla fue evaluada a 16, 23 y 30 días después de la inoculación, a través de la determinación visual del porcentaje de área foliar con síntomas de la enfermedad. La inoculación de las plantas se realizó utilizando la técnica de Gilchrist-Saavedra *et al.* (2005), mediante la aspersión foliar de una solución que contenía alrededor de 51,000 conidios de *Oidium* sp. por litro de agua; el inoculo primario se obtuvo de plantas de calabaza.

Para el experimento de *Sclerotium rolfsii* el patógeno primario se obtuvo de una planta huésped de chile (*Capsicum annuum*), la siembra y purificación del patógeno se realizó en medio PDA, a una temperatura de 28 °C. Las variables de respuesta fueron: crecimiento radial del hongo en medio PDA, el cual se midió cada 8 horas con un vernier digital (6MP, Truper Herramientas, México); producción de esclerocios, la cual se obtuvo contando de manera visual los esclerocios en cada caja Petri, después de 10 días de exponerlos a la luz; así como, la producción de biomasa del micelio, fue obtenida despejando el micelio del medio de cultivo, posteriormente fueron puestos en papel filtro, para depositarlos en una estufa de secado hasta un peso constante por 72 horas, y ser pesados en una báscula de precisión.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad de cometer error, utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.0 y MINITAB 16.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre el crecimiento de plantas de pepino (Cuadro 1 y 2). Así, 7 días después de exponerlas a la luz (DEXL), la altura de las plantas que crecieron bajo el efecto de LBC, con mayor LR: RFA (40.9%) y LR: LA (2.67) fue superior en 21.26% con relación a la altura de las plantas que crecieron bajo LBF, con menor LR: RFA (26.55%) y LR: LA (0.97). Efectos semejantes se encontraron a los 17 y 38 DEXL, de tal forma que las plantas que recibieron mayor LR (LBC, 118.03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fueron más altas en 17.43 y 36.46%, respectivamente, en comparación a la altura desarrollada por las plantas que recibieron menos LR (LBF, 81.34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Así mismo, la altura que presentaron las plantas que crecieron bajo mayor relación de LR: LA (LBN, 1.55), a los 17 y 38 DEXL fue superior en 14.84 y 17.23% con respecto a las plantas que crecieron bajo el efecto de mayor LA (Villar, 2016).

El diámetro de tallo tuvo una mayor expresión en las plantas que crecieron bajo el efecto de LBF, con mayor LA: RFA (27.48%) y LA: LR (1.04) ya que a los 7 y 38 DEXL superaron en 7.9 y 15.5% a las plantas que crecieron bajo LBC, con menor LA: LR (0.37), y de igual manera en 15.8 y 5.1% con relación al diámetro de tallo de las plantas que crecieron bajo el efecto de LBN con menos LA: LR (0.65). Similar fue el resultado para verdor de la hoja donde las plantas que recibieron el efecto de mas LA (LBF, 84.19 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), obtuvieron la mayor concentración de verdor superando en 6.3 y 2.2% a los 17 DEXL a las plantas que recibieron menos LA (LBC y LBN: 44.24 y 64.87 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente); así mismo a los 38 DEXL el verdor de las plantas que crecieron bajo una alta relación LA:RFA (27.48%), fue superior en 8.3 y 3.6% con respecto al presentado por las plantas que crecieron bajo una menor relación de LA:RFA (LBC, 15.03% y LBN, 21.25%). Con respecto al órgano foliar, la calidad de luz originó modificaciones significativas; así, a los 7 DEXL el área foliar en las plantas que crecieron con mayor LR (LBC, 118.03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue superior 27.88% con relación al área foliar de las plantas que recibieron menos LR (LBF, 81.34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Efectos semejantes se encontraron a los 17 y 38 DEXL, de tal forma que el área foliar de las plantas que recibieron mayor relación LR: RFA (40.09%) fue superior en 30.21 y 9% con respecto al área foliar presentada por la plantas que crecieron bajo menor relación de LR: RFA (26.55%). El aumento del área foliar y verdor foliar se deben a las diferentes relaciones de LA:LR por las lámpara de luz blanca fría y cálida, ya que autores como Ayala-Tafoya *et al.* (2015) señalan que altas proporciones de luz roja (600 a 700 nm), en un ambiente luminoso creado por mallas fotoselectivas promovió aumentos en área foliar de pimiento y tomate; dichos autores también mencionan que la luz azul (400 a 500 nm) promovió altos valores de verdor foliar en los cultivos antes mencionados. La forma de la hoja también resulta afectada por la calidad de la luz; la forma de las hojas de geranio ha mostrado estar influenciado por la luz azul suplementaria en plantas crecidas bajo luz roja (Fukuda *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Influencia de la calidad de luz en la morfología de plantas de pepino 'Poinsett 76'.

Variable	Tratamiento	7 DEXL	17 DEXL	38 DEXL
Altura (cm)	Luz blanca fría	4.42 b*	5.39 b	40.67 c
	Luz blanca neutra	4.49 ab	6.19 a	47.68 b
	Luz blanca cálida	5.36 a	6.33 a	55.50 a
Diámetro de tallo (mm)	Luz blanca fría	2.15 a	3.52 a	5.39 a
	Luz blanca neutra	1.81 b	3.27 a	5.12 ab
	Luz blanca cálida	1.98 a	3.45 a	4.55 b
Verdor (Unidades SPAD)	Luz blanca fría	41.02 a	41.19 a	54.32 a
	Luz blanca neutra	40.90 a	40.27 ab	52.40 ab
	Luz blanca cálida	39.23 a	38.74 b	50.13 b
Área foliar (cm ² /planta)	Luz blanca fría	17.35 b	123.17 b	1697.99 b
	Luz blanca neutra	20.38 b	139.76 ab	1892.87 a
	Luz blanca cálida	24.06 a	160.38 a	1855.56 a

DEXL=días de exposición a la luz. *Medias con la misma letra en cada columna y variable son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

En el Cuadro 3 se observa que la producción de biomasa también presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) debidas a la calidad de la luz. A 7 DEXL, LR tuvo un efecto positivo en el

caso de las hojas, ya que con LBC (LR=118.03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; LR:RFA=40.9; LR:LA=2.67) , acumularon 29.3 y 20.6% más peso fresco y seco, respectivamente, comparados con el peso fresco y seco de hojas procedentes de plantas cultivadas con LBF (LR=81.34 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; LR:RFA= 26.55%; LR:LA= 0.97); mientras que las hojas de plantas que crecieron bajo LBN (LR=100.44 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) presentaron 16.7 y 13.7% más peso fresco y seco, con respecto a las mismas variables de respuesta de las plantas que crecieron bajo el efecto de LBF (Nishimura *et al.*, 2009). No obstante, a 17 y 38 DEXL las diferencias ya no fueron significativas. Con respecto a la acumulación de biomasa de tallo, aunque a los 7 DEXL no se observaron diferencias (Cuadro 3), a los 17 y 38 DEXL el tallo también acumuló más peso fresco y seco cuando las plantas crecieron bajo el efecto de LBC, aunque estadísticamente igual que bajo el efecto de LBN (Casierra-Posada *et al.*, 2012; Ayala-Tafoya *et al.*, 2015).

LA influyó de manera similar en el peso fresco de raíz, ya que las plantas que crecieron en ambientes luminosos con más LA (LBN=64.87 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y LBF=84.19 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) desarrollaron 58.2 y 32.6% más biomasa radicular comparada con la de las plantas que crecieron bajo el efecto de menos LA (LBC, 44.24 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Sin embargo, a 17 y 38 DEXL ya no se observaron diferencias; como tampoco fueron observadas en el peso seco de la raíz en cualquier muestreo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Influencia de la calidad de luz en la biomasa fresca y seca de plantas de pepino 'Poinsett 76'.

Variable	Tratamiento	7 DEXL	17 DEXL	38 DEXL
Peso fresco de hojas (g)	Luz blanca fría	0.286 b*	2.321 a	31.74 a
	Luz blanca neutra	0.334 ab	2.520 a	33.91 a
	Luz blanca cálida	0.370 a	2.682 a	33.27 a
Peso fresco de tallo (g)	Luz blanca fría	0.695 a	0.880 b	9.28 b
	Luz blanca neutra	0.720 a	0.858 b	11.01 a
	Luz blanca cálida	0.824 a	1.008 a	11.83 a
Peso fresco de raíz (g)	Luz blanca fría	0.512 a	0.467 a	6.44 a
	Luz blanca neutra	0.611 a	0.406 a	6.22 a
	Luz blanca cálida	0.386 b	0.487 a	6.02 a
Peso seco de hojas (g)	Luz blanca fría	0.029 b	0.227 a	3.74 a
	Luz blanca neutra	0.033 ab	0.209 a	3.55 a
	Luz blanca cálida	0.035 a	0.263 a	3.57 a
Peso seco de tallo (g)	Luz blanca fría	0.047 a	0.036 b	0.65 b
	Luz blanca neutra	0.048 a	0.034 b	0.74 ab
	Luz blanca cálida	0.046 a	0.043 a	0.79 a
Peso seco de raíz (g)	Luz blanca fría	0.031 a	0.046 a	0.29 a
	Luz blanca neutra	0.018 a	0.041 a	0.29 a
	Luz blanca cálida	0.013 a	0.043 a	0.30 a

DEXL=días de exposición a la luz. *Medias con la misma letra en cada columna y variable son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

Los resultados registrados sobre la severidad de cenicilla en las hojas de pepino, muestran que la luz emitida por lámparas fluorescentes con alta relación LR: RFA (40.09%) y LR: LA (2.67)

permitieron que el hongo asperjado sobre las hojas pudiera establecerse y generar una mayor severidad de la enfermedad (Cuadros 1 y 4). Esos resultados se pueden entender al considerar que existe evidencia científica que describe cómo la calidad de la luz en términos de longitud de onda, juega un rol importante en la interacción planta-patógeno. Así, se ha probado la activación de los mecanismos de defensa en las plantas por efecto de la luz roja, efecto que puede restringir la severidad del daño en las plantas por los patógenos (Rahman *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2010); también, se ha probado que la luz azul logra afectar la germinación de conidios pero que esa calidad de luz es indispensable para mantener la virulencia del patógeno (Yu *et al.*, 2013).

Cuadro 4. Influencia de la calidad de luz en la severidad de la cenicilla en hojas de pepino 'Poinsett 76'.

Tratamientos	Hoja 1 (16 ddi)	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4 (23 ddi)	Hoja 5	Hoja 6	Hoja 7 (30 ddi)	Hoja 8
LBF	16.25 a*	22.08 ab	80.41 b	80.83 a	45.41 b	92.91 a	81.24 a	2.58 b
LBN	23.75 a	26.67 a	93.75 a	91.66 a	72.08 a	92.93 a	82.51 a	9.66 a
LBC	21.41 a	12.50 b	84.16 ab	81.25 a	67.08 a	87.52 a	84.12 a	2.25 b

LBF=luz blanca fría. LBN=luz blanca neutra. LBC=luz blanca cálida. ddi=días después de la inoculación. *Medias con la misma letra en cada columna y variable son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre el crecimiento radial de *Sclerotium rolfsii* (Cuadro 5). Así, después de 8 horas de exposición a la luz (HEXL), el crecimiento del hongo bajo la influencia de LBC, menos LA ($44.24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) superó en 6.55% al crecimiento radial del hongo que recibió LBF, mayor LA ($84.19 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Efectos semejantes se encontraron a las 16 y 24 HEXL, de tal forma que el crecimiento radial del hongo que recibió LBC, con más LR ($118.03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) aumentó en 7.47 y 19.34%, respectivamente, en comparación al crecimiento presentado por el hongo cuando recibió LBF, con menos LR ($81.34 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Así mismo, el crecimiento radial del hongo que creció bajo la influencia de LBN, a los 16 y 24 HEXL fue superior en 14.01 y 13.86% con respecto al crecimiento radial bajo la influencia de LBF.

El crecimiento radial presentó su mayor expresión bajo la influencia de LBC, con mayor LR ya que a las 32 y 40 HEXL, superó con 19.07 y 18.32% al crecimiento del hongo que creció bajo la influencia de LB, con menor LR. De igual forma, a 48, 56 y 64 HEXL el crecimiento radial bajo la influencia de LBC, alta relación de LR:LA fue superior en 29.05, 32.33 y 28.22%, comparado con el crecimiento del hongo por efecto de LBF, menor relación de LR:LA.

Estos resultados se pueden entender al considerar que existe evidencia científica que describe cómo la calidad de la luz en términos de longitud de onda, juega un rol importante en la interacción planta-patógeno. La luz azul inhibe directamente la germinación de esporas y/o el

crecimiento del tubo germinativo en muchos hongos patógenos de plantas (Mueller y Buck, 2003; Beyer *et al.*, 2004).

Cuadro 5. Influencia de la calidad de luz emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC) en el crecimiento radial de *Sclerotium rolfsii*.

Tratamiento/HEXL	Crecimiento radial (mm)							
	8	16	24	32	40	48	56	64
LBF	12.2 ^{b*}	21.4 ^b	27.4 ^b	32.5 ^b	44.2 ^b	49.9 ^c	53.5 ^c	61.9 ^c
LBN	13.3 ^a	24.4 ^a	31.2 ^a	36.3 ^a	50.0 ^a	56.4 ^b	61.0 ^b	72.0 ^b
LBC	13.0 ^{ab}	23.0 ^{ab}	32.7 ^a	38.7 ^a	52.3 ^a	64.4 ^a	70.8 ^a	79.4 ^a

HEXL=horas de exposición a la luz. * Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes también originó efectos significativos ($P \leq 0.05$) sobre la producción de esclerocios (Figura 3A), ya que el hongo cultivado bajo el efecto de LBF, con mayor LA produjo el menor número de esclerocios (985.4), seguido por LBN (1148) y la mayor formación de esclerocios se observó bajo la influencia de LBC (1257.7). Lo cual coincide con lo reportado por Reuveni y Raviv (1997), quienes encontraron que las películas que transmiten más luz azul, pueden suprimir esporulación en mildius y *Botrytis cinerea*.

En cuanto a la producción de biomasa de micelio, la calidad de luz emitida por las lámparas fluorescentes originó efectos significativos ($P \leq 0.05$), ya que el hongo cultivado bajo el efecto de LBF produjo 57.14% menos cantidad de biomasa (0.7 mg), que bajo el efecto de LBN y LBC (Figura 3B).

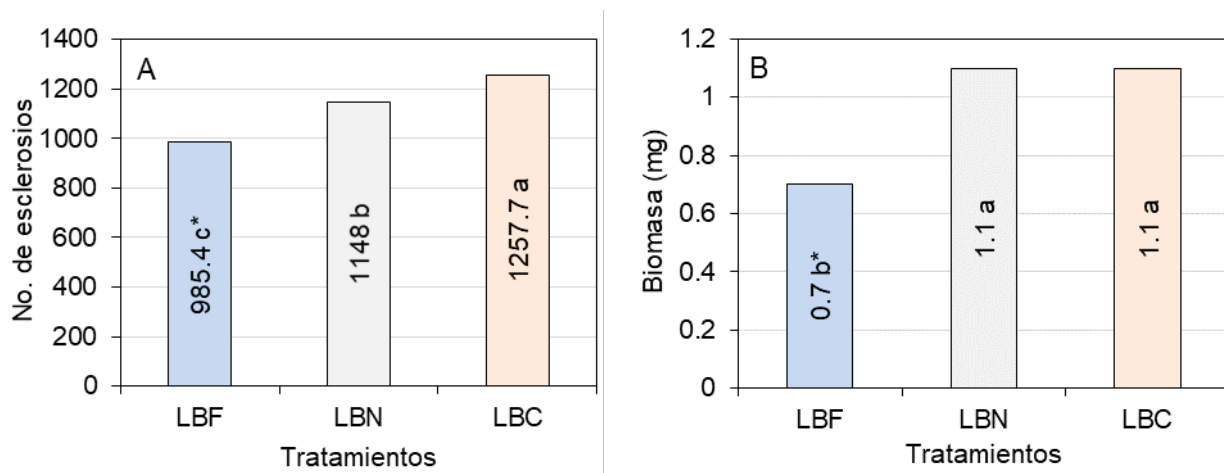


Figura 3. Influencia de la calidad de luz, emitida por lámparas fluorescentes de luz blanca fría (LBF), neutra (LBN) y cálida (LBC), en la formación de esclerocios (A) y biomasa de micelio (B) de *Sclerotium rolfsii* cultivado *in vitro*. *Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

El espectro luminoso emitido por las lámparas fluorescentes influyó la morfología de las plantas de pepino, pues con la luz blanca fría se logró mayor verdor de hoja y diámetro de tallo, mientras que la luz blanca cálida incrementó la altura y el área foliar de las plantas.

La biomasa fresca y seca de hojas y tallo también fue modificada por la calidad de luz, las plantas que crecieron bajo el efecto de luz blanca cálida produjeron las mayores cantidades de biomasa fresca y seca, tanto de tallo como de hojas.

La luz blanca fría y la luz blanca cálida permitieron disminuir la severidad de cenicilla en plantas de pepino.

El espectro luminoso emitido por las lámparas fluorescentes influyó en el crecimiento de *Sclerotium rolfsii*. La luz blanca fría disminuyó el crecimiento radial, producción de esclerocios y biomasa de micelio del fitopatógeno.

LITERATURA CITADA

Avercheva O.V., Berkovich Y.A., Erokhin A.N., Zhigalova T.V., Pogosyan S.I., Smolyanina S.O. 2009. Growth and photosynthesis of Chinese cabbage plants grown under light-emitting diode-based light source. Russian Journal of Plant Physiology 56(1):14-21. ISSN 1021-4437; DOI: 10.1134/S1021443709010038.

Ayala-Tafoya F., Yáñez-Juárez M.G., Partida-Ruvalcaba L., Ruiz E.F.H., Campos G.H., Vásquez M.O., Velázquez-Alcaraz T.J., Díaz-Valdés T. 2015. Producción de pepino en ambientes diferenciados por mallas de sombreo fotoselectivo. ITEA 111(1):3-17. <http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.001>

Beyer M., Roding S., Ludewig A., Verreet J.A. 2004. Germination and survival of *Fusarium graminearum* macroconidia as affected by environmental factors. Journal of Phytopathology 152:92-97. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2003.00807.x>

Blanco F.F., Folegatti M.V. 2003. A new method for estimating the leaf area index of cucumber and tomato plants. Horticultura Brasileira 21(4):666-669. Print version ISSN 0102-0536 On-line version ISSN 1806-9991; DOI <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362003000400019>

Casierra-Posada F., Peña-Olmos J.E., Ulrichs C. 2012. Basic growth analysis in strawberry plants (*Fragaria* sp.) exposed to different radiation environments. Agronomía Colombiana 30(1):25-33. ISSN 0120-9965; URL

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652012000100004

Fukuda N., Fujitan M., Sase S., Ezura H. 2008. Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. HortScience 115:176-182. DOI, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.006>

Fukuda N., Ikeda H., Nara M. 1993. Effects of light quality on the growth of tomato and kidney bean cultured by hydroponics under controlled environment. Journal of the Society of Agricultural Structures 23(3):17-24. ISSN : 2186-0122, DOI, <https://doi.org/10.11449/sasj1971.23.127>

Fukuda N., Nogi M., Sase S., Nishimura S. 2002. Effects of localized light quality from light-emitting diodes on geranium peduncle elongation. HortScience 580:151-156. DOI:10.17660/ActaHortic.2002.580.18

- Gilchrist-Saavedra L., Fuentes-Dávila G., Martínez-Cano C., López-Atilano R.M., Duveiller E., Singh R.P., Henry M., García A.I. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F.: CIMMYT.URL: <https://ageconsearch.umn.edu/record/56185/files/guiaTrigoCebada.pdf>
- Heraut-Bron V., Robin C., Varlet-Grancher C., Guckert A. 2001. Phytochrome mediated effects on leaves of white clover: consequences of light interception by the plant under competition for light. *Annals of Botany* 88:737-743.DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1510>
- Javanmardi J., Shandiz E. 2013. Response of tomato and pepper transplants to light spectra provided by light emitting diodes. *International Journal of Vegetable Science* 19:138-149.DOI: <https://doi.org/10.1080/19315260.2012.684851>
- Lazo J.V., Ascencio J. 2010. Efecto de diferentes calidades de luz sobre el crecimiento de *Cyperus rotundus*. *Bioagro* 22(2):153-158.
- Martín R.P., Navas G.L.M., Hernández N.S., Corrêa G.A., Martín G.J., Martín B.E., Chamorro P.P., Durán A.J.M. 2010. Diodos emisores de luz para la irradiación de plantas. Universidad de Valladolid.URL: oa.upm.es/7044/2/INVE_MEM_2010_76665.pdf
- Mueller D.S., Buck J.W. 2003. Effects of light, temperature, and leaf wetness duration on daylily rust. *Plant Disease* 87:442-445. ISSN : 0191-2917; DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.4.442>
- Nguy-Robertson A., Suyker A., Xiangming X. 2015. Modeling gross primary production of maize and soybean croplands using light quality, temperature, water stress, and phenology. *Agricultural and Forest Meteorology* 213:160-172. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.04.008>
- Nishimura T.K., Ohyama E., Inagaki N. 2009. Concentrations of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of perilla plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia Horticulturae* 122:134-137.DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.03.010>
- Rahman M.Z., Honda Y., Arase S. 2003. Red-light-induced resistance in broad bean (*Vicia faba* L.) to leaf spot disease caused by *Alternaria tenuissima*. *Journal of Phytopathology* 151, 86-91.DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00685.x>
- Reuveni R., Raviv M. 1992. The effect of spectrally-modified polyethylene films on the development of *Botrytis cinerea* in greenhouse-grown tomato plants. *Biology, Agriculture and Horticulture* 9:77-86. DOI:<https://doi.org/10.1080/01448765.1992.9754618>
- Reuveni R., Raviv M. 1997. Control of downy mildew in greenhouse-grown cucumbers using blue photoselective polyethylene sheets. *Plant Disease* 81:999-1004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.9.999>
- Villar A.E. 2016. Diseño e implantación de un sistema de iluminación suplementario LED en un invernadero de investigación en la Grajera, Logroño (La Rioja). Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 224 p.
- Wang H., Jiang Y.P., Yu H.J., Xia X.J., Shi K., Zhou Y.H., Yu J.Q. 2010. Light quality affects incidence of powdery mildew, expression of defence-related genes and associated metabolism in cucumber plants. *European Journal of Plant Pathology* 127:125-135. DOI:10.1007/s10658-009-9577-1
- Yorio N.C., Goins G.D., Kagie H.R., Wheeler M.R., Sager J.C. 2001. Improving spinach, radish, and lettuce growth under red light emitting diodes (LEDs) with blue light supplementation. *Hortscience* 36(2):380-383. DOI:<http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.1191>

Yu S.M., Ramkumar G., Lee Y.H. 2013. Light quality influences the virulence and physiological responses of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in pepper plants. Journal of Applied Microbiology 115:509-516. ISSN 1364-5072;DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.12252>

PREVALENCIA DE *Salmonella* Y SU ASOCIACIÓN AL ESTADO DE BIENESTAR DEL CERDO, EN GRANJAS UBICADAS EN EL CENTRO DE SINALOA

Velázquez Valdez Diana Zuleika¹, Silva Hidalgo Gabriela², López Valenzuela Martín³, Romo Rubio Javier Alonso⁴, Dávila Ramos Horacio⁴, Cárcamo Aréchiga Nora María⁴, María de Lourdes Alonso Spilsbury⁵.

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias zuly13_09@hotmail.com; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAS ²Directora de tesis, FMVZ-UAS. ³Co-director de tesis, FMVZ-UAS. ⁴Asesores, FMVZ-UAS. ⁵Asesora, DPAA, Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.

RESUMEN

Los cerdos pueden desarrollar infecciones gastroentéricas o sistémicas causadas por *Salmonella* y en ocasiones ser portadores asintomáticos. Durante la cadena productiva porcina, *Salmonella* puede transmitirse entre individuos y después del sacrificio contaminar sus productos, convirtiéndose así en una fuente de transmisión del patógeno para los humanos. Debido a que la salmonelosis es uno de los principales problemas de salud mundial, resulta importante estudiar la prevalencia del patógeno dentro de los sistemas de producción porcina. Además, se sabe que el estado de bienestar animal interviene en la efectividad de respuesta inmune de los animales ante agentes infecciosos y en la inocuidad de sus productos alimenticios. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo principal determinar la asociación entre el estado de bienestar animal y la prevalencia de *Salmonella* spp. en dos granjas porcinas de ciclo completo. Se recolectaron muestras fecales en las etapas productivas y se realizó aislamiento bacteriano para posteriormente confirmar por PCR el gen *invA*. El bienestar animal se evaluó mediante protocolo. De las 324 muestras recolectadas en las dos granjas, 17.9% resultaron positivas al aislamiento de *Salmonella* spp. y el 14.8% positivas por biología molecular. El gen *invA* se observó con mayor frecuencia en las muestras de fragmentos de íleon (52% en la Huerta), en linfonodos mesentéricos (26.09% en Recoveco) y en maternidad (24% en la Huerta y 17.39% en Recoveco). En la evaluación de bienestar animal, se utilizaron indicadores de acuerdo a la etapa, obteniendo diferentes calificaciones de acuerdo a las características observadas en los cerdos.

ABSTRACT

Pigs can develop gastroenteric or systemic infections caused by *Salmonella* and sometimes be asymptomatic carriers. During the swine production chain, *Salmonella* can be transmitted between individuals and after slaughter contaminate its products, thus becoming a source of transmission of the pathogen to humans. Because salmonellosis is one of the main global health problems, it is important to study the prevalence of the pathogen within the swine production systems. In addition, it is known that the state of animal welfare intervenes in the effectiveness of the animals' immune response to infectious agents and in the safety of their food products. Therefore, the main objective of this study was to determine the association between the state of

animal welfare and the prevalence of *Salmonella* spp. in two full-cycle porcine farms. Faecal samples were collected in the productive stages and bacterial isolation was performed to later confirm the *invA* gene by PCR. Animal welfare was evaluated by protocol. Of the 324 samples collected from the two farms, 17.9% were positive for the isolation of *Salmonella* spp. and 14.8% positive by molecular biology. The *invA* gene was observed more frequently in samples of ileum fragments (52% in La Huerta), in mesenteric lymph nodes (26.09% in Recoveco) and in maternity (24% in La Huerta and 17.39% in Recoveco). In the evaluation of animal welfare, indicators were used according to the stage, obtaining different grades according to the characteristics observed in the pigs.

PALABRAS CLAVE

Salmonella, bienestar animal, cerdos, producción porcina.

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es la enfermedad causada por cualquiera de los más de 2,500 serovares de *Salmonella* spp. (Flores, 2014). En los cerdos, las infecciones subclínicas de *Salmonella*, constituyen un desafío importante para la industria porcina, debido a las pérdidas económicas y como fuente de cepas zoonóticas de *Salmonella* relacionadas con enfermedades transmitidas por los alimentos (Ahmed *et al.*, 2014). La presencia de *Salmonella* spp. afecta a la industria porcícola por gastos en el diagnóstico, tratamiento y por disminuir la producción; además, es una barrera no arancelaria para la comercialización de alimentos y un grave problema de salud pública (Rodríguez y Suárez, 2014); hay retraso en el crecimiento de los animales enfermos y eleva la mortalidad en los animales jóvenes; además, las heces de portadores sanos, son una fuente importante de contaminación (Flores, 2014). La diseminación sistémica de *Salmonella* ocurre después de una situación de estrés, como el destete o el transporte (Flores, 2014). Los cerdos infectados, son portadores de patógenos por mucho tiempo en su tracto gastrointestinal (Ahmed *et al.*, 2014). Por lo tanto, la detección temprana de la infección y el tratamiento antes de su diseminación, es la mejor manera de manejar la enfermedad. El comportamiento de los animales, es uno de los indicadores más comúnmente utilizados y sensibles del bienestar animal; la identificación de alteraciones del comportamiento normal puede utilizarse para el reconocimiento de enfermedades en los cerdos (Ahmed *et al.*, 2014). En los porcinos, el bienestar no es sólo una cuestión práctica para mejorar la salud y aumentar la productividad, también es una cuestión ética; es responsabilidad de los productores y demás entes involucrados en el sector proporcionarlo, especialmente durante el transporte y manejo de los cerdos en el rastro y al sacrificio, con miras a la obtención de carne de óptima calidad (FAO, 2014b). Dentro de los factores que determinan el bienestar animal se encuentran la genética, la nutrición, la sanidad, el transporte y el manejo, que se le brinde al animal durante todas las etapas de la vida (Hughes y Duncan, 1988; Broom y Fraser, 2007; Farm Animal Welfare Committee, 2009; Uribe y Henao, 2017). Las agresiones entre cerdos en los corrales son muy estresantes, especialmente durante las peleas, donde hay una gran movilización de reservas de energía; además, el estrés inducido provoca inmunosupresión, reduciendo la capacidad del animal para protegerse de agentes infecciosos amenazantes, lo que aumenta el riesgo de enfermedad (Lonch *et al.*, 2017). Otro de los manejos más estresantes del cerdo, es el destete, sobre todo por las agresiones que se dan durante el establecimiento de jerarquías, como consecuencia de la mezcla de lechones de diferentes camadas (Lonch *et al.*, 2017). Existe una

asociación entre la reducción de la inmunocompetencia posdestete con un aumento de las enfermedades gastrointestinales, tales como la diarrea, provocada por diversos patógenos (Llonch *et al.*, 2017). El estrés también puede provocar la disminución del consumo de alimento, y en consecuencia, en el crecimiento de los cerdos (Llonch *et al.*, 2017). Además del dolor, las heridas y lesiones, representan una amenaza para la salud, ya que pueden infectarse y provocar enfermedades tales como septicemia y, eventualmente, la muerte (Llonch *et al.*, 2017). El objetivo del estudio fue determinar la prevalencia lápsica de *Salmonella* spp. y su asociación con el bienestar de los cerdos, derivadas de las prácticas de manejo realizadas en dos unidades de producción porcina, ubicadas en la zona centro de Sinaloa.

HIPÓTESIS

La prevalencia de *Salmonella* spp. está asociada al estado de bienestar del cerdo durante el proceso productivo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la asociación entre el estado de bienestar y la prevalencia de tracción fecal de *Salmonella* spp. en los cerdos.

3.1. Objetivos específicos:

- 1) Determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. en los cerdos en sus diferentes etapas productivas.
- 2) Determinar el estado de bienestar del cerdo en las diferentes etapas productivas.
- 3) Determinar la asociación entre la prevalencia de *Salmonella* spp y el estado de bienestar del cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de estudio

La investigación se llevó a cabo en dos granjas porcinas; 1) “La Huerta”, localizada en la Sindicatura de Culiacancito en el Municipio de Culiacán de Rosales, Sinaloa; con coordenadas GPS: Longitud (dec): -107.527222, Latitud (dec): 24.821389, y 2) Granja porcina ubicada en Recoveco, Mocorito, Sinaloa; con coordenadas GPS: Longitud 24.9936, Latitud: -107.728, y en el Laboratorio de Patología -área de Patología Molecular- de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Tipo de estudio

Esta investigación cumple con las características de ser un estudio observacional, transversal, prospectivo (Thrusfield, 1990).

Tamaño de la muestra

Con base en un estudio piloto previo, en el que se obtuvo el 3.35% de casos positivos a *Salmonella* spp., en que se esperaba el 2%, con un intervalo de confianza de 95%; se determinó un tamaño de muestra mínima de 147 cerdos, en una población de 5000 cerdos, para la granja porcina “La Huerta”. En el caso de la granja porcina ubicada en Recoveco, bajo el

mismo supuesto, el tamaño mínimo de muestra fue de 105, con una población de 200 animales; de acuerdo al método propuesto por Thrusfield (1990).

Cuadro 1. Número de muestras recolectadas por etapa en cada granja porcina.

ETAPA PRODUCTIVA	MUESTRAS RECOLECTADAS EN LA HUERTA	MUESTRAS RECOLECTADAS EN RECOVECO
GESTACIÓN	19	9
MATERNIDAD	33	9
DESTETE	28	14
ENGORDA	24	17
ANTES DEL TRANSPORTE A RASTRO	5	5
DURANTE DEL TRANSPORTE	11	0
CORRAL DE ESPERA DEL RASTRO	7	3
FRAGMENTOS DE ÍLEON	48	28
LNM	47	28

Toma de muestras

La recolección de muestras de heces se realizó por conveniencia en hembras gestantes (una semana antes del parto); las camadas de las hembras gestantes que resultaron positivas a *Salmonella* spp, se les dio seguimiento durante la lactancia, destete; seguimiento que continuó en el área de engorda, antes del transporte de los cerdos al rastro y en el corral de espera, tomando muestras de heces durante cada una de las etapas mencionadas. Además de Después del sacrificio, se recolectaron muestras de íleon y linfonodos mesentéricos (LNM). Las etapas de muestreo se exponen en la Figura 1.

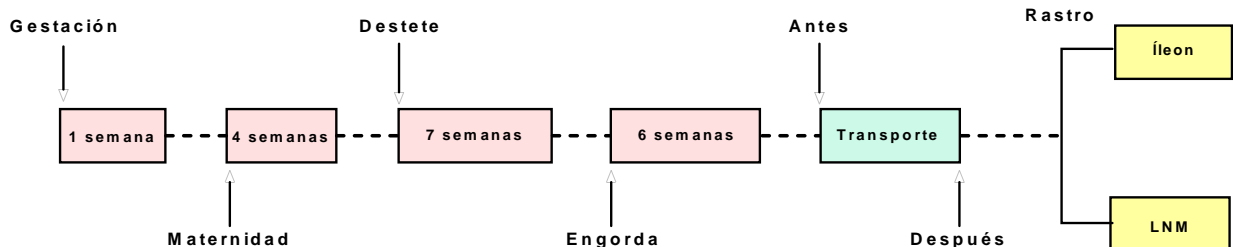


Figura 1. Etapas productivas en que se realizó el muestreo.

Manejo de las muestras

Las muestras fueron recolectadas con guantes de látex, depositadas en frascos estériles nuevos, al terminar la recolección, se transportaron en una hielera con geles refrigerantes para su conservación durante el trayecto hacia el Laboratorio de Patología de la FMVZ-UAS.

Aislamiento bacteriano
Enriquecimiento selectivo

De cada muestra de heces obtenida se tomó 1 g aproximadamente, la cual se sometió a enriquecimiento en 10 mL de Base de Tetrionato (CT), la que se incubó a 37°C durante 48 horas. Posteriormente, 0.1 mL de cada muestra fueron transferidos a 9.9 mL de Rappaport Vassiliadis (MSRV), medio semisólido y líquido; para luego ser incubadas a una temperatura de 42°C durante 24 horas.a

Aislamiento selectivo

La siembra para aislamiento bacteriano se realizó en Agar Base Xilosa-Lisina-Tergitol 4 (XLT4), la que se incubó a 37°C durante 24 horas.

Extracción de ADN bacteriano

Para la extracción de ADN bacteriano se utilizó una matriz comercial (InstaGene matrix®). El extracto se colocó en microtubos a una temperatura de -20°C.

Amplificación del gen *invA* mediante PCR

El procesamiento de las muestras se realizó siguiendo la metodología propuesta por Biswas *et al.* (2001). En el análisis por PCR Mix® se utilizaron 5 µL de ADN (de una dilución de 1:10), 1 µL de oligonucleótido “forward”, 1 µL de oligonucleótido “reverse”, 12.5 µL de PCR super Mix®, 1.5 µL de cloruro de magnesio y 4 µL de agua para uso molecular. La secuencia de oligonucleótidos utilizada fue “forward” 5' – TGC CTA CAA GCA TGA ATT GG – 3' y “reverse” 5' – AAA CTG GAC CAC GGT GAC AA – 3'. Después de realizar la mezcla en los microtubos, se colocó en un termociclador (Bio Rad®, MJ Mini Personal Thermal Cycler), mismo que se programó con las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización a 94°C por 1 minuto; seguido de 35 ciclos de amplificación: desnaturalización (94°C por 1 minuto), alineamiento (64°C por 30 segundos), extensión (72°C por 30 segundos) y una extensión final (72°C por 7 minutos); con una duración total de 2 horas 15 minutos. Los amplicones fueron separados por electroforesis en geles de agarosa al 1.8%, agregando en cada pozo 1 µL de Blue Loading Buffer With DNA Stain®, como tinción para el ADN. Fueron observados en un fotodocumentador (Bio Rad®, Gel Do Ez Imager) y revelados para su análisis.

Protocolo de bienestar animal

Para evaluar el estado de bienestar de los cerdos en esta investigación se adaptaron los indicadores de dos protocolos de evaluación en la especie: el Welfare Quality® (2009) desarrollado en Europa y el Swine Welfare Assurance Program (SWAPSM), publicado por el National Pork Board (2003), como un programa voluntario para auditorías de bienestar animal en granjas porcinas de EEUU. Así mismo, se emplearon datos y referencias de expertos en el país, que adaptaron y han publicado diversos indicadores prácticos en condiciones nacionales. Los indicadores evaluados en las granjas estudiadas fueron los siguientes: condición corporal, suministro de agua *ad libitum*, espacio insuficiente, corrales con daño en pisos, espacio inapropiado en el comedero, presencia de bursitis, lesiones en hombros, heces en el cuerpo, amontonamiento, jadeos, cojeras, abscesos, heridas en vulva, heridas en otras partes del cuerpo, animales con tos, metritis, mastitis, animales con estornudos, estereotipias,

vocalizaciones; en lechones se evaluarán exploración, juego, heridas en piel por agresión, masajeo de abdomen, mordisqueo a otros cerdos, sentado como perro, mordidas en barrotes y reacción de evitación a operarios. Algunos indicadores se evaluaron en escala de 0, 1 y 2; donde: 0 = buen estado de bienestar animal, 1 = bienestar intermedio y, 2 = malas condiciones de bienestar. De cada indicador evaluado se obtuvo la prevalencia, la cual fue comparada con valores de referencia de Alonso *et al.* (2016 a,b,c; 2017) y Alonso y Ramírez (2017 a,b,c); determinando el estado de bienestar animal (según la prevalencia del indicador), empleando un código de semáforo (verde, amarillo o rojo); donde: verde = se trata de un bienestar bueno, amarillo = bienestar medio, y rojo = bienestar pobre.

Análisis estadístico

El análisis de la prevalencia, se obtuvo mediante la suma de la prevalencia puntual al comienzo del periodo de estudio (P) y la incidencia (IP) durante el periodo de estudio; de acuerdo con la siguiente fórmula (Thrusfield, 1990).

$$Pp = P + Ip$$

Se realizó un análisis de diferencia de proporciones, con un alfa de 0.05. para aceptar diferencia estadística entre las medias de las prevalencias observadas en cada uno los indicadores evaluados, entre las dos unidades de producción estudiadas.

El análisis de asociación entre la excreción de *Salmonella* y las medidas de bienestar animal se realizó utilizando un cuadro de dos por dos, considerando como medida de asociación odds ratio, a un alfa de 0.05.

RESULTADOS

Muestras de heces analizadas y resultados obtenidos en cada unidad de producción porcina

Granja porcina “La Huerta”. Se recolectaron 211 muestras, de las cuales 34 (16.11%) fueron positivas al aislamiento de *Salmonella* spp.; los resultados positivos se distribuyeron de la siguiente manera: dos en gestación, siete en maternidad, tres en destete, dos en engorda, una antes de ser transportados, una después de ser transportados, 15 en íleon y tres en linfonódulos mesentéricos (LNM). En la Figura 2, se puede observar claramente, que el sitio donde se obtuvo el mayor número de aislamiento positivos a *Salmonella* spp., fue en los fragmentos de íleon (44.12%); seguido de las muestras obtenidas en el área de maternidad (20.59%). De los 34 aislamientos positivos, 25 (73.52%), amplificaron al gen *invA* (Ver Cuadro 1). Las muestras obtenidas con resultado positivo al gen *invA*, según la etapa productiva, fue la siguiente: dos en gestación, seis en maternidad, una en destete, una en engorda, una antes de ser transportados, una después de ser transportados, y 13 en íleon. La amplificación del gen

invA fue mayor en muestras obtenidas del íleon (52%), seguido de las obtenidas del área de maternidad (24), ver Figura 3.

5.1.2. Granja de Recoveco. Se recolectaron 113 muestras, de las cuales 24 (21.23%) fueron positivas al aislamiento de *Salmonella* spp. (Cuadro 2); los resultados positivos se distribuyeron de la siguiente manera: cuatro en el área de gestación, cuatro en el área de maternidad, tres en destete, una antes del transporte de los cerdos al rastro, dos después del transporte, cuatro en muestras de íleon y seis en LNM. La Figura 4, muestra que el lugar, con mayor número de resultados positivos al aislamiento de *Salmonella* spp. fue el rastro; con 25% en los LNM, seguidos por las muestras obtenidas del íleon, área de gestación, área de maternidad y área de destete, con un 16.67% cada una. De los 24 aislamientos positivos, 23 (95.83%) amplificaron para el gen *invA*; distribuidas de la siguiente manera: cuatro en la etapa de gestación, cuatro en maternidad, tres en la etapa de destete, una antes del transporte de los cerdos, dos después del transporte, tres en íleon y seis en LNM. En la figura 5, se observa que la etapa de mayor positividad en el muestreo fue en LNM con un 26.09%, seguido de las etapas de gestación y maternidad con un 17.39% cada una.

Cuadro 2. Muestras recolectadas y resultados positivos obtenidos por granja y por tipo de técnica diagnóstica.

Muestras totales	Granja	Muestras por granja	Positivos aislamiento	Positivos molecular
324	La huerta	211	34	25
	Recoveco	113	24	23

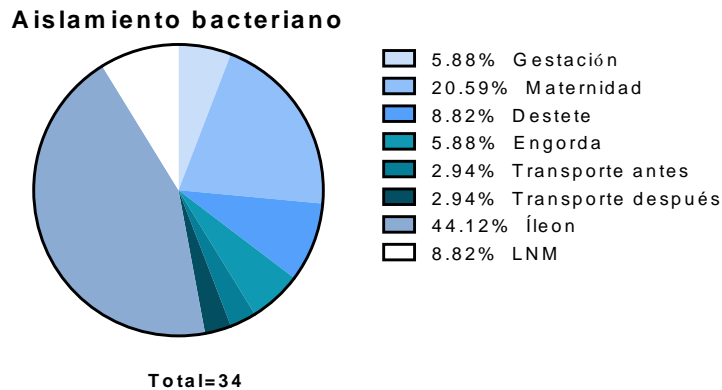


Figura 2. Muestras positivas al aislamiento de *Salmonella* spp., por etapa productiva, en la granja porcina “La Huerta”.

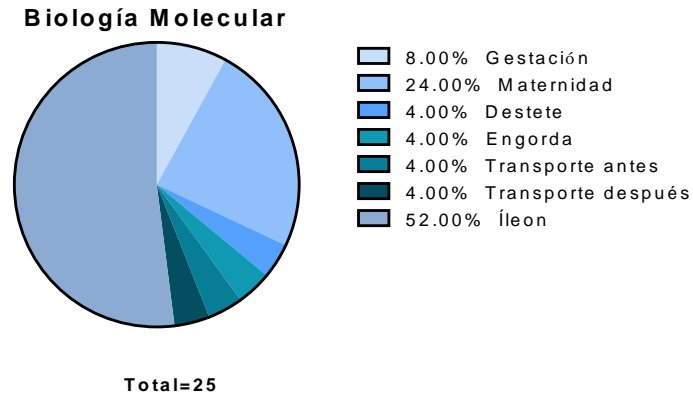


Figura 3. Muestras positivas a la amplificación del gen *invA*, en cada etapa productiva, en la granja porcina “La Huerta

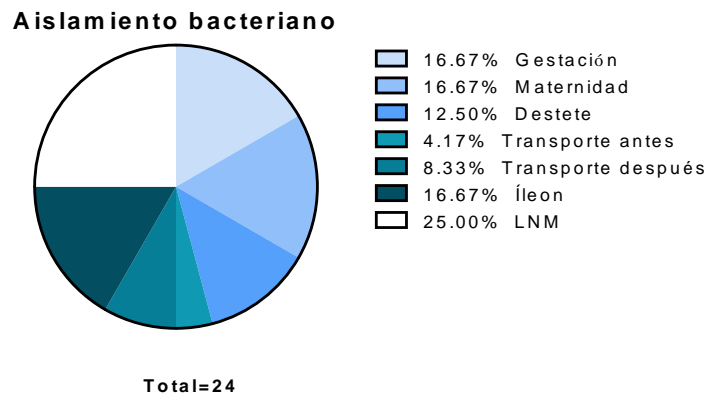


Figura 4. Muestras positivas de *Salmonella* spp., por etapa productiva, en la granja porcina ubicada en Recoveco, Mocorito, Sinaloa.

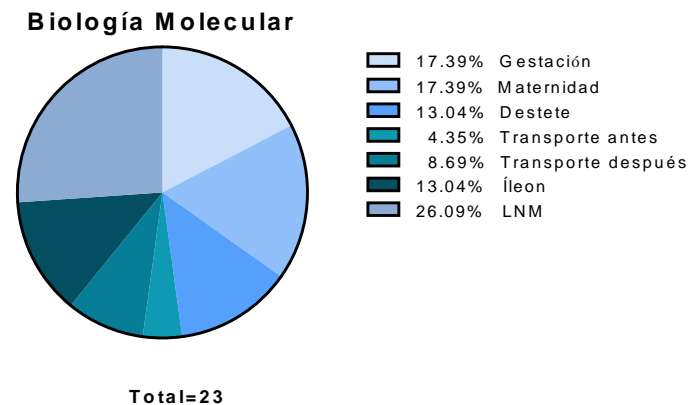


Figura 5. Muestras positivas a la amplificación del gen *invA*, por etapa productiva, en la granja porcina ubicada en Recoveco, Mocorito, Sinaloa.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en aislamientos bacterianos y por biología molecular muestran que *Salmonella* está presente en todas las etapas productivas de las dos granjas estudiadas, además se aisló también después del proceso de sacrificio en íleon y linfonodos mesentéricos lo que puede ser una fuente de contaminación para los productos cárnicos porcinos obtenidos de esos cerdos. Por otro lado, hay objetivos que no se han concluido, se está trabajando en la base de datos obtenida de los protocolos de bienestar animal de ambas granjas, para posteriormente el análisis de datos y su respectiva interpretación.

LITERATURA CITADA

- Ahmed S. T., Mun H.-S., Yoe H., Yang C.-J. 2014. Monitoring of behavior using a video-recording system for recognition of *Salmonella* infection in experimentally infected growing pigs. The Animal Consortium 2014.
- Broom D.M., Fraser A. 2007. Domestic animal behaviour and welfare. 4ta. ed. Wallingford, Oxon, UK: CAB International.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2014. Review of animal welfare legislation in the beef, pork, and poultry industries. 1a. ed. Roma: 2014.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2014b. Cerdos y el bienestar animal. http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/pigs/AH_welfare.html (Consulta, diciembre 2017).
- Farm Animal Welfare Committee. 2009. S. f. <https://www.gov.uk/government/groups/farm-animal-welfare-committee-fawc> (Consulta, diciembre 2017).
- Flores R. 2014. La salmonelosis porcina y su importancia en la cadena de producción en <http://ciap.org.ar> SUIS N° 111 Octubre 2014.
- Hughes B., Duncan I. 1998. The notion of ethological “need” models of motivation and animal welfare. Anim Behav. 1988; 36 (6):1696-707.
- Llonch P., Mainau E., Temple D., Manteca X. 2017. La agresividad en los cerdos y sus consecuencias sobre el bienestar en www.fawec.org Farm Animal welfare education centre. Ficha técnica sobre bienestar de animales de granja.
- Rodríguez D. M. y Suárez M. C. 2014. *Salmonella* spp. in the pork supply chain: a risk approach. Rev Colomb Cienc Pecu 2014. Bogotá.
- Thrusfield M. 1990. Epidemiología veterinaria. Editorial Acribia, S.A. España. pp: 197-198.
- Uribe C. N., Henao V. S. 2017. Transporte de cerdos y sus repercusiones en el bienestar animal y la producción cárnica. Rev. Med. Vet. N° 33, Bogotá Colombia.

PARTENOCARPIA, FITORREGULADORES SINTÉTICOS Y VERMICOMPOSTA, EN EL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE CALABACITA DE INVERNADERO

Leonardo Román Román, Felipe Ayala Tafoya, Tomás Díaz Valdés, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz, Carlos Alfonso López Orona y Juan Martín Parra Delgado.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. leo_roman16@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Las calabazas (*Cucurbita* spp.) son un producto hortícola de importancia mundial. De acuerdo con los datos más recientes disponibles, en 2016 se cosecharon 1, 992,003 hectáreas en las que se obtuvo una producción de 26, 486,616 toneladas (FAO, 2018). Para la temporada 2017, se sembraron 18,898 ha y cosecharon 213, 078 t (SIAP, 2018), de las cuales 76.17 y 74.16% correspondieron a calabacita o fruto verdura, que es la forma de aprovechamiento más importante en México de los frutos de calabaza, tanto para consumo nacional como para exportación (Sedano-Castro *et al.*, 2005). En Sinaloa, durante el año agrícola 2017, se cosecharon 3,051 ha y produjeron 57,586 t de calabacita (SIAP, 2018).

El cultivo de calabacita (*Cucurbita pepo* L.) bajo condiciones de invernadero tiene ventajas con respecto al sistema de campo abierto, como son: mayor producción por unidad de superficie, mejor calidad de frutos, reducción en la incidencia de plagas y enfermedades y, por lo tanto, disminución en la aplicación de plaguicidas (Ayala-Tafoya *et al.*, 2012). Sin embargo, en invernadero existen dificultades para cuajar frutos de forma natural, lo cual hace necesaria la introducción de abejas o abejorros. Pero cuando no se puede contar con los polinizadores, se puede recurrir al uso de fitorreguladores sintéticos, cuyas pulverizaciones son dirigidas a las plantas o a las flores, para inducir el cuajado de frutos (Li *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2005; Maroto *et al.*, 2005; Ayala-Tafoya *et al.*, 2012). Otra manera de lograr un buen cuajado de fruto en condiciones de invernadero es mediante el uso de variedades con alto porcentaje de partenocarpia (Robinson y Reiners, 1999); es decir, donde el fruto se desarrolla en ausencia de fertilización (Varoquaux *et al.*, 2000).

La partenocarpia puede inducirse mediante el uso de reguladores de crecimiento sintéticos, con acción en las plantas como la de las auxinas, citoquininas y giberelinas naturales (Lozano *et al.*, 2009; Núñez *et al.*, 2008; Miguel y Maroto, 2000). Las auxinas, giberelinas y citocininas naturales, que estimulan procesos involucrados en el crecimiento de las plantas, están presentes con singular riqueza en compostas y vermicompostas, las cuales además de contener nutrientes esenciales para las plantas, deben valorarse también porque ejercen un efecto multilateral en las propiedades agronómicas del suelo, al contribuir al mantenimiento y desarrollo de la microflora y microfauna, que a su vez incrementa la disponibilidad y asimilación de los nutrientes por las raíces (Domínguez *et al.*, 2010; Calvo *et al.*, 2014; Aremu *et al.*, 2015).

La vermicomposta aplicada al suelo, como fuente de las sustancias naturales promotoras del crecimiento, podría contribuir en la producción de frutos, a pesar de que no se polinicen las flores o se apliquen vía foliar fitorreguladores sintéticos a las plantas. Por tanto, el objetivo de este trabajo es conocer el efecto de la aplicación foliar de auxinas y de vermicomposta al suelo en el crecimiento de las plantas y el rendimiento de calabacita bajo condiciones de invernadero.

PROBLEMA CIENTÍFICO

Se desconoce el nivel de partenocarpia natural en los genotipos de calabacita disponibles actualmente en el mercado, además de su interacción con el efecto de la aplicación foliar de fitorreguladores sintéticos y de vermicomposta aplicada al suelo, como fuente de fitohormonas naturales, en el crecimiento de las plantas, el cuajado de frutos y el rendimiento y calidad de la calabacita cultivada bajo condiciones de invernadero.

HIPÓTESIS

Altos niveles de partenocarpia natural, aunados a la promoción del cuaje ocasionado por fitorreguladores y de vermicomposta aplicada al suelo, posibilita el cultivo rentable de calabacita bajo condiciones de invernadero.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el nivel de partenocarpia y efectos de la aplicación foliar de fitorreguladores y vermicomposta al suelo, en el crecimiento y rendimiento de calabacita cultivada bajo condiciones de invernadero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Seleccionar genotipos de calabacitas comerciales con mayor rendimiento y porcentaje de partenocarpia.

Conocer el efecto de la aplicación foliar de fitorreguladores (auxinas, giberelinas y citocininas) en el crecimiento de las plantas, el cuajado de frutos, el rendimiento y calidad de la calabacita cultivada bajo condiciones de invernadero.

Determinar la influencia de la vermicomposta aplicada al suelo, como fuente de fitohormonas naturales, en el crecimiento de las plantas, el cuajado de frutos y el rendimiento y calidad de la calabacita cultivada bajo condiciones de invernadero.

Determinar el contenido de auxina (ácido indolacético), giberelina (ácido giberelico) y citocinina (zeatina) en vermicomposta, suelo y planta (fruto) de calabacita.

REVISIÓN DE LITERATURA

Partenocarpia. El desarrollo de un fruto sin polinización, y que por tanto no produce semillas, recibe el nombre de partenocarpia (Varoquax *et al.*, 2000; Lora *et al.*, 2011). Dos mecanismos principalmente son los responsables de la formación de frutos sin semillas: 1) partenocarpia, donde el fruto se desarrolla en ausencia de fertilización, como en las piñas cultivadas, algunos cítricos y bananas; y 2) estenospermia, donde la polinización y la fertilización son necesarias, pero los embriones no se forman, o bien abortan antes de la completa formación de la semilla, como ocurre en las sandías y uvas sin semilla (Lora *et al.*, 2011). El desarrollo de los frutos partenocárpicos en tomate está controlado por varios genes recesivos, en pepino dulce *Solanum muricatum* parece que es sólo un gen dominante el implicado en el control genético de la partenocarpia (Ehlenfeldt y Vorsa, 2007). Estudios moleculares y fisiológicos han dilucidado la implicación de genes tan diversos como aquellos que controlan la síntesis de auxinas, giberelinas y citocininas (Fos *et al.*, 2001; Ehlenfeldt y Vorsa, 2007). Este carácter ha sido observado en invernadero en melón, calabacita, tomate y pimiento (Rylski y Aloni, 1990). Pero aunque la partenocarpia inducida por reguladores del crecimiento ha sido objeto de numerosos

estudios en calabacita (Suleiman y Suwwan, 1990; Atasayar y Vural, 1993; Sanz, 1995), poco se sabe sobre la partenocarpia natural o genética en esta especie. En Almería, España, ninguna de las variedades híbridas comerciales que se utilizan actualmente tiene el nivel de partenocarpia suficiente para eliminar los tratamientos con auxinas sintéticas (Ruiz, 2013).

Uso de fitoreguladores sintéticos. Los intentos de sustituir la polinización verdadera por la aplicación de fitoreguladores que estimulen el crecimiento del fruto, aunque no haya habido polinización o ésta hubiera sido deficiente, no les había dado resultado hasta la aparición y empleo de una citoquinina derivada de la urea, el CPPU o clorfenuron [1- (2-cloro-4 piridil) -3-fenil urea]. Este producto puede aplicarse con un pincel sobre el pedúnculo de la flor o pulverizado sobre el ovario o también sumergiendo la flor en una disolución que lo contenga. Se han probado distintas concentraciones, desde 200 a 25 mg L⁻¹ sobre plantas triploides, aunque normalmente, con la concentración más baja se obtienen porcentajes de cuaje menores. Prácticamente la totalidad de las flores tratadas con CPPU se desarrolla en fruto, principalmente las fecundadas naturalmente. Pero si el número de flores cuajadas en una planta es demasiado elevado, ésta puede llegar a morir por agotamiento (Hayata *et al.*, 2002). Otra citoquinina, la benziladenina, es también capaz de cuajar frutos sin que haya habido polinización, pero su eficacia es mucho más reducida (Miguel, 2001).

Se han llevado a cabo algunos trabajos para inducir la partenocarpia, en tomate, sandía y pepino, empleando algunos fitoreguladores de crecimiento (Lozano *et al.*, 2009; Núñez *et al.*, 2008; Miguel y Maroto, 2000).

Uso de vermicompostas. La rápida descomposición de los residuos orgánicos que llevan a cabo las lombrices con los microorganismos, da lugar a sustratos con una actividad y diversidad microbianas considerablemente mayores que las del residuo de partida, llegándose a multiplicar varias veces los valores iniciales de fertilidad y microbiológicas. Este incremento de la actividad microbiana además de aumentar la tasa de transformación de nutrientes a formas más fácilmente asimilables por las plantas, puede afectar al crecimiento vegetal mediante el incremento en la actividad enzimática, la supresión de enfermedades y la producción de sustancias reguladoras del crecimiento: auxinas, giberelinas y citoquininas (Domínguez *et al.*, 2010).

El uso de la vermicomposta, permite incrementar la porosidad, aireación y capacidad de retención de agua del suelo. Incrementa la superficie aérea de las plantas, facilita la absorción y retención de nutrientes, por un largo periodo (Sadegh *et al.*, 2015).

El conjunto de sustancias naturales promotoras del crecimiento y ácidos fenólicos presentes en la vermicomposta actúan de diversas maneras y contribuyen a las numerosas respuestas fisiológicas tales como aumento de crecimiento y rendimiento, así como una respuesta mejorada a diversos tipos de estrés biótico y abiótico (Aremu *et al.*, 2015).

En diversos trabajos se ha encontrado que con el uso de vermicomposta no solo se puede obtener un aumento en el crecimiento de las plantas y la producción de biomasa, sino también, inducir y diversificar la actividad microbiana del suelo. El té de vermicomposta también es de gran importancia ya que cuenta con una diversidad de comunidades microbianas que son benéficas para el crecimiento de las plantas (Fritz *et al.*, 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio del experimento. El trabajo se llevará a cabo en un invernadero ubicado en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, geográficamente localizado a 24° 48' 30" de latitud Norte, 107° 24' 30" de longitud Oeste y 38.54 m de altitud. El invernadero (Baticenital 740-350®, ACEA, México) está orientado de Norte a Sur, es de estructura metálica, con 3.5 m al canal pluvial y 6.3 m de altura total. Está conformado por tres naves de 7.4 m de ancho en una superficie total de 1480 m². La cubierta en forma de doble arco tiene plástico blanco traslucido, LDPE 180 μ, estabilización UV tipo Hals, 91% de transmisión global de luz visible y 33% de dispersión de luz visible. Dispone de ventilación en laterales y cabeceras (3.3 m), así como cenital (0.9 m), con malla HDPE anti-afidos (16 x 10 hilos cristalinos/cm²).

El clima de Culiacán [BS1(h')w(w)(e)] es semiseco, muy cálido, extremoso con lluvias en verano, con una temperatura media anual de 25.9 °C y una precipitación media anual de 672.8 mm (García, 2004).

Durante el ciclo de cultivo se registrarán las condiciones de temperatura y humedad relativa mediante termohigrómetros (DT171, CEM, Colombia).

Manejo agronómico. Se utilizarán semillas de calabaza del tipo zucchini gris y verde oscuro. El suelo se preparará hasta que se logre un buen desmenuzamiento de los terrones. Entonces se formarán camas separadas a 1.8 m una de otra, a partir del centro de cada cama. Desde la incorporación de vermicomposta al suelo, se regará para mantenerlo con una humedad cercana a la capacidad de campo. Entre tanto se realizará la siembra de las semillas de calabaza en charolas de poliestireno de 128 cavidades, rellenas con turba (Brown 025W, Kekkila, Finlandia) y tapadas con vermiculita (Gruesa A3, KBW Supply, México). El trasplante se realizará cuando las plántulas tengan dos hojas verdaderas, colocándolas a hilera sencilla con una separación de 60 cm entre plántulas, para una densidad de 9,260 plantas/ha.

La aportación de agua y fertilizantes se hará mediante la técnica de fertirrigación, con dos cintas de riego con goteros cada 0.20 m (23009, Netafim, Israel) colocadas encima de cada cama. Los riegos se realizarán tres veces a la semana, con volúmenes de agua y cantidades de fertilizantes de acuerdo con el estado de desarrollo de las plantas y el clima imperante.

Experimento 1. "Evaluación de rendimiento y porcentaje de partenocarpia de variedades de calabacita".

Diseño experimental. Se usará un diseño de bloques al azar con 10 tratamientos y cuatro repeticiones. Los Tratamientos corresponderán a los genotipos de calabacita: T1= Prestige (HM Clause), T2= Chabela (HM Clause), T3= HMX586429 (HM Clause), T4= Aurora (Sakata), T5= Macaria (HM Clause), T6= Ebano (Syngenta), T7= Hurakan (HM Clause), T8= Verona (Lark Seeds), T9= Jacobo (Syngenta), T10= Torino (Lark Seeds).

Variables de respuesta. Para determinar la partenocarpia, en seis plantas de cada tratamiento se recolectarán datos de porcentaje de cuaje de frutos. Para ello un día antes de la antesis de las flores femeninas, éstas serán cubiertas en forma manual, para evitar la polinización, con una bolsa de papel tipo glassine y aseguradas con una grapa para evitar su caída y la introducción de insectos polinizadores. Se registrará el número de flores femeninas y masculinas por planta, así como el número de frutos cuajados, abortados y cosechados por planta.

Los frutos de calabacita se clasificaron en los calibres comerciales: X (50 a 100 g), 2X (101 a 225 g), 3X (226 a 350 g) y 4X (351 a 450 g), de acuerdo con Sabori *et al.* (1998) y Molinar *et al.* (1999), y cuyo peso se determinará mediante una báscula de precisión (CP622, Sartorius, Alemania).

Análisis estadístico. Los resultados de las variables de respuesta serán procesados con el paquete STATISTICA 7.0 (StatSoft, 2004), a través del análisis de varianza y la prueba de rangos múltiples de Duncan ($P \leq 0.05$) para la separación de medias.

Experimento 2. “Influencia de fitorreguladores sintéticos y vermicomposta en el crecimiento de las plantas, cuajado de frutos, rendimiento y calidad de calabacita cultivada bajo condiciones de invernadero”.

Diseño experimental. Se usará un diseño de bloques al azar con siete tratamientos y cuatro repeticiones. El Tratamiento 1 corresponderá a la aplicación foliar de un fitorregulador sintético con base en auxinas [Amcotone® (ácido naftalenacético 0.45% + 1-naftalenacetamida 1.20%), ANVAC, México], en la dosis de 600 mg L⁻¹. El Tratamiento 2 corresponderá a la aplicación foliar de un fitorregulador sintético con base en giberelinas [Fengib® (ácido giberelico 0.5% + fentiol 1%), Sipcam Iberia, España], en la dosis de 0.3-0.5 mL L⁻¹. El Tratamiento 3 corresponderá a la aplicación foliar de un fitorregulador sintético con base en citocininas [Sitofex® (1-(2-cloro-4 piridil)-3-fenil urea), Basf, México], en la dosis de 50 mg L⁻¹; con una primera aplicación efectuada al principio de la floración y repetida dos veces más con 10 días de diferencia entre aplicaciones. Los Tratamiento 4, 5 y 6 se diferenciarán en el aprovechamiento de sustancias naturales promotoras del crecimiento (fitohormonas, etc.) disponibles a partir de 5, 15 y 25 t ha⁻¹ de vermicomposta (Lombricomposta, BioHache®, México). Además de un testigo (Tratamiento 7). Cada repetición estará constituida por diez plantas de calabaza.

Variables de respuesta. En cada planta se medirá longitud de tallo, de la base al ápice de crecimiento por medio de una cinta métrica; diámetro de tallo, en el primer entrenudo formado por hojas cotiledonales y primera hoja verdadera mediante un calibrador digital (6MP, Truper Herramientas, México); área foliar se calculará mediante la ecuación propuesta por Rouphael *et al.* (2006): $AF = 4.77 + (0.61 \times \text{Ancho}^2)$; peso seco de tallo y hojas a través de una balanza de precisión (CP622, Sartorius, Alemania), previo secado en horno eléctrico a 70 °C, hasta peso seco constante (292, Felisa, México). También se medirá el índice de verdor con un clorofilímetro portátil (SPAD 502, Minolta Sensing, Japón) con la misma periodicidad de las variables anteriores. Se registrará el número de flores femeninas y masculinas por planta, así como el número de frutos cuajados, abortados y cosechados por planta.

Se determinará el rendimiento de calabacita, y por calibres comerciales; X (50 a 100 g), 2X (101 a 225 g), 3X (226 a 350 g) y 4X (351 a 450 g), de acuerdo con Sabori *et al.* (1998) y Molinar *et al.* (1999), y cuyo peso se determinará mediante una báscula de precisión (CP622, Sartorius, Alemania). Los parámetros de calidad que se evaluarán: sólidos solubles totales (°Brix), con refractómetro (ATC-1E, Atago); firmeza de la pulpa (kg/cm²), con penetrómetro (FT-327, Bertuzzi); color de piel y pulpa, con colorímetro (CR-300, Minolta); acidez titulable, por el método de titulación acido-base (A.O.A.C., 1990); pH, con potenciómetro (300, Beckman).

Análisis estadístico. Los resultados de las variables de respuesta serán procesados con el paquete STATISTICA 7.0 (StatSoft, 2004), a través del análisis de varianza y la prueba de rangos múltiples de Duncan ($P \leq 0.05$) para la separación de medias.

Experimento 3. “Cuantificación de auxinas (ácido indolacético, AIA), giberelinas (ácido giberélico, AG₃) y citocininas (zeatina, Z) en vermicomposta, suelo y planta (fruto) de calabacita”.

Extracción de reguladores de crecimiento (fitohormonas). Antes de la extracción las muestras se deshidratarán 12 horas en una liofilizadora (Labconco modelo FreeZone 4.5; EE.UU.). De cada tipo de muestra liofilizada se colocarán 10 mg en un tubo plástico y se le agregarán 500 µL de solución de extracción, según el protocolo propuesto por Pan (2010). La solución de extracción contendrá 2-propanol grado HPLC (J. T. Baker), agua desionizada y HCl concentrado grado reactivo (J. T. Baker), en proporción 2:1:0.002. Los tubos se agitarán 30 min en vórtex (Scientific Industries, modelo G560; EE.UU.) a 100 rpm y refrigeración (6 ± 1 °C). Después, a cada tubo se le agregará 1000 µL de diclorometano grado HPLC (J. T. Baker), se agitará 30 min a 100 rpm y centrifugará a 716 g por 10 min (Hettich, modelo EBA 21; EE.UU.). Luego, la fase orgánica (la inferior) se extraerá con una micropipeta Eppendorf (EE.UU.) y se depositará en un tubo limpio. El disolvente se evaporará totalmente, con corriente de gas nitrógeno (grado alta pureza; Infra) y se agregarán 500 µL de metanol filtrado grado HPLC (J.T. Baker) al residuo de cada tubo. Los tubos se almacenaron hasta el análisis cromatográfico.

Preparación de soluciones de estándares analíticos. Los estándares cuantitativos de fitohormona serán ácido giberélico 3 (AG₃, pureza 90 %), ácido indol-3-acético (AIA, pureza 98 %), zeatina (Z, pureza ≥ 98 %) (Sigma-Aldrich). De ellos se prepararán diluciones con 0.01, 0.1 y 1.0 mg por mL de metanol grado HPLC (J.T. Baker).

Análisis cromatográfico. El cromatógrafo para el estudio (Agilent, modelo 1100) estará equipado con un detector UV-Vis y una columna Agilent (modelo 866953-906 Rx/SB-C8 de 4.6x75 mm). La fase móvil será la mezcla de las soluciones A y B (80:20). La solución A contendrá acetonitrilo grado HPLC (J. T. Baker) y ácido trifluoroacético grado espectrofotométrico (Sigma-Aldrich) en proporción 1:0.001; la solución B contendrá agua desionizada y ácido trifluoroacético grado espectrofotométrico (Sigma-Aldrich) en proporción 1:0.001. Ambas soluciones se filtrarán con membranas Millipore tipo HV de 0.45 µm (protocolo adaptado de Pan *et al.*, 2010). El flujo de la fase móvil será de 2 mL min⁻¹. Con un inyector manual (Rheodyne, modelo 755) se inyectarán 20 µL de cada extracto en triplicado. Las lecturas de absorción se harán en tres longitudes de onda: 206 nm para giberelinas, 254 nm para auxinas (Harborne, 1984) y 280 nm para citocininas. La respuesta se expresará en mil unidades de absorbancia por segundo (mAU·s⁻¹) (Ortiz y Flórez, 2008). La identidad de las fracciones se determinará por comparación con los tiempos de retención y la longitud de onda de máxima absorción de los estándares. Además, las curvas de calibración se obtendrán con los estándares.

LITERATURA CITADA

Aremu A.O., Stirk W.A., Kulkarni M.G., Tarkowská D., Turecková V., Gruz J., Subrtoya M., Pencik A., Novák O., Dolezal K., Strnad M. Staden J. 2015. Evidence of phytohormones and phenolic acids variability in garden-waste-derived vermicompost leachate, a well-known plant

growth stimulant. *Plant Growth Regulation*. 75 (2): 483-492. ISSN: 0167-6903. DOI: [10.1007/s10725-014-0011-0](https://doi.org/10.1007/s10725-014-0011-0)

Atasayar A., Vural H. 1993. An investigation on parthenocarpic fruit set level some commercial squash varieties. II National Horticultural Congress, Adana-Turkey. pp: 203-206.

Ayala-Tafoya F., Partida R.L., Velázquez A.T.J., Díaz V.T. 2012. Ácido 2,4-diclorofenoxiacético y producción de calabacita en invernadero. pp. 61-78. In: Guerra *et al.* (Coord.). *Tópicos Selectos de Ciencias Agropecuarias*. Universidad Autónoma de Sinaloa. México. 354p. ISBN: 978-607-9230-22-7.

Calvo P., Nelson L., Kloepper J.W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil*. 383: 3-41. ISSN: 1573-5036; DOI: [10.1007/s11104-014-2131-8](https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8)

Cantera A. 1997. Influencia de la utilización de hormonas en el amarre de flores y cuajado de frutos en melón, sandía, pimiento (bell pepper) y tomate. *Memorias del IV Congreso Internacional de Nuevas Tecnologías Agrícolas*. Puerto Vallarta, Jalisco, México. pp: 103-112.

Díaz F.A., Alvarado C.M., Alejandro A.F., Ortiz C.F.E. 2016. Crecimiento, nutrición y rendimiento de calabacita con fertilización biológica y mineral. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 32 (4): 445-453. ISSN: 0188-4999. DOI: [10.20937/RICA.2016.32.04.08](https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.04.08)

Domínguez J., Lazcano C., Gómez-Brandón M. 2010. Influence of vermicompost on plant growth. Contributions toward the development of an objective concept. *Acta Zoológica Mexicana*. 2: 359-371. ISSN: 2448-8445. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372010000500027 (Consulta, marzo 2019).

Ehlenfeldt M.K., Vorsa N. 2007. Inheritance patterns of parthenocarpic fruit development in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *HortScience*. 42 (5): 1127-1130. ISSN: 2327-9834. DOI: [10.21273/HORTSCI.42.5.1127](https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1127)

FAO. 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. <http://faostat3.fao.org> (Consulta, mayo 2017).

Fritz J.I., Franke-Whittle I.H., Haindl S., Insam H., Braun R. 2012. Microbiological community analysis of vermicompost tea and its influence on the growth of vegetables and cereals. *Canadian Journal of Microbiology*. 58 (7): 836-847. ISSN: 1480-3275. DOI: [10.1139/w2012-061](https://doi.org/10.1139/w2012-061)

García E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. UNAM-Instituto de Geografía. México. Serie libros, 6: 98p. ISBN: 970-32-1010-4.

Harborne J. B. 1984. *Phytochemical methods*. 2nd ed. Editorial Chapman & Hall. London, England. 228p. ISBN: 978-94-009-5570-7; DOI: 10.1007/978-94-009-5570-7

Hayata Y., Li X-X., Osajima Y. 2002. Pollination and CPPU treatment increase endogenous IAA and decrease endogenous ABA in muskmelons during early development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 127: 908-911. ISSN: 2327-9788; DOI: [10.21273/JASHS.127.6.908](https://doi.org/10.21273/JASHS.127.6.908)

Li X-X., Hayata Y., Osajima Y. 2002. p-CPA increases the endogenous IAA content in parthenocarpic muskmelon fruit. *Plant Growth Regulation*, 37: 99-103. ISSN: 1573-5087 DOI: [10.1023/A:1020580427010](https://doi.org/10.1023/A:1020580427010)

Li X-X., Yasukawa J., Hayata Y. 2005. Role of endogenous indole-3-acetic acid in fruit set of zucchini. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 74 (2): 167-169. ISSN: 1880-358X; DOI: <https://doi.org/10.2503/jjshs.74.167>

Lora J., Hormaza J.I., Herrero M., Gasser C. S. 2011. Seedless fruits and the disruption of a conserved genetic pathway in angiosperm ovule development. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA). 108: 5461–5465. ISSN: [1091-6490](https://doi.org/10.1073/pnas.1014514108) DOI: [10.1073/pnas.1014514108](https://doi.org/10.1073/pnas.1014514108)

Lozano R., Giménez E., Cara, B., Capel J., Angosto T. 2009. Genetic analysis of reproductive development in tomato. Int. J. Dev. Biol. 53: 1635-1648. ISSN: 1696-3547; DOI: 10.1387/ijdb.072440rl

Maroto J.V., Miguel A., Lopez-Galarza S., San Bautista A., Pascual B., Alagarda J., Guardiola J.L. 2005. Parthenocarpic fruit set in triploid watermelon induced by CPPU and 2,4-D applications. Plant Growth Regulation. 45 (3): 209-213. ISSN: 1573-5087; DOI: 10.1007/s10725-005-3992-x

Miguel A. 2001. Panorama actual del cultivo de sandía. Vida Rural No. 125. www.eumedia.es/articulos/vr/hortofrut/125sandia.htm (Consulta, marzo 2019).

Miguel A., Maroto J.V. 2000. Nuevas Técnicas en el Cultivo de la Sandía. Fundación Caja Rural Valencia, España. 89p. ISBN: 84-607-1439-X.

Molinar R., Aguiar J., Gaskell M., Mayberry K. 1999. Summer squash production in California. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 7245. 4p. ISBN: 978-1-60107-036-4.

Montaño M.N.J., Méndez N.J.R. 2009. Efecto de reguladores de crecimiento sobre el epicarpo, mesocarpo y solidos solubles totales del fruto de melón (*Cucumis melo* L.) cv, Edisto 47. Revista UDO Agrícola. 9 (2): 295-303. ISSN: 1317-9152; <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3308221> (Consulta, marzo 2019).

Núñez F.J., Huitrón M.V., Díaz M., Dianéz F., Camacho-Ferre F. 2008. Effect on production and quality of intensifying triploid watermelon crops using 'temporary trellises' and CPPU for fruit development. HortScience. 43 (1): 149-152. ISSN: 2327-9834; DOI: 10.21273/HORTSCI.43.1.149

Ortiz L.Y., Flórez V. J. 2008. Comparación cuantitativa de ácido abscísico y citoquininas de *Solanum tuberosum* L. y *S. phureja* Juz. et Buk. Agron. Colomb. 26 (1): 32-39. ISSN: 2357-3732. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/13914/14629> (Consulta, marzo 2019).

Pan X., Welti R., Wang X. 2010. Quantitative analysis of major plant hormones in crude plant extracts by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. Nat. Protoc. 5:986-992. ISSN: 1750-2799; DOI: 10.1038/nprot.2010.37

Rouphael Y., Rivera C.M., Cardarelli M., Fanasca S., Colla G. 2006. Leaf area estimation from linear measurements in zucchini plants of different ages. Journal of Horticultural Science & Biotechnology. 81 (2): 238-241. ISSN: 1462-0316. DOI: [10.1080/14620316.2006.11512056](https://doi.org/10.1080/14620316.2006.11512056)

Ruiz P.A.L. 2013. Comparación de la partenocarpia, la calidad poscosecha y la producción de etileno en el fruto de diferentes variedades de calabacín (*Cucurbita pepo*) morfotipo zucchini. Tesis. Universidad de Almería. 128 pp. <https://core.ac.uk/download/pdf/143456080.pdf> (Consulta, marzo 2019).

Rylski I., B. Alonl. 1990. Parthenocarpic fruit set and development in Cucurbitaceae and Solanaceae under protected cultivation in a mild winter climate. Acta Hort., 287:117-126. ISSN: 0567-7572; DOI: 10.17660/ActaHortic.1991.287.11

- Sabori P.R., Grajeda G.J., Chávez C.M., F C.A.A. 1998. Guía para la producción de cucurbitáceas en la costa de Hermosillo, Sonora. INIA. CIRNO. CECH. 222. ISBN: 978-607-425-433-4
- Sadegh H.N., Zakerin H.R., Yousefi T., Hashemi S.M., Farmambar M. 2015. Influence of foliar application of micronutrients and vermicompost on some characteristics of crop plants. *Biological Fórum*. 7 (2): 657-665. ISSN: 2249-3239. <https://www.researchtrend.net/bfij/pdf/108%20HABIB%20NOORI%20SADEGH.pdf> (Consulta, marzo 2019).
- Sanz M. 1995. Fitorreguladores para el calabacín. *Hortofruticultura*, 33: 46-48.
- Sedano-Castro G., González-Hernández V.A., Engleman E.M., Villanueva-Verduzco C. 2005. Dinámica del crecimiento y eficiencia fisiológica de la planta de calabacita. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 11 (2): 291-297. ISSN: 2007-4034. DOI: 10.5154/r.rchsh.2002.08.047
- SIAP. 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. www.gob.mx/siap (Consulta, noviembre 2018).
- StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com
- Suleiman F.A.S., Suwwan M.A. 1990. Effect of agritone on fruit set and productivity of summer squash (*Cucurbita pepo* L.) under plastic house conditions. *Advances in Horticultural Science*. 4 (2): 83-89. ISSN: 0394-6169.
- Varela-Delgadillo O.E., Livera-Muñoz M., Muratalla-Lúa A., Carrillo-Salazar J.A. 2018. Inducción de partenocarpia en *Opuntia* spp. *Rev. Fitotec. Mex.* 41 (1): 3-11. ISSN: 0187-7380. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/41-1/1a.pdf>
- Varoquaux F., Blanvillain R., Delseny M., Gallois P. 2000. Less is better: new approaches for seedless fruit production. *Trends in Biotechnology*. 18: 233-242. ISSN: 1080-2558. DOI: 10.1016/s0167-7799(00)01448-7
- Vidal M.D.G., Jong D.D., Wein H.C., Morse R.A. 2010. Pollination and fruit set in pumpkin (*Cucurbita pepo*) by honey bees. *Revista Brasileira de Botânica*. 33: 107-113. ISSN: 1806-9959; DOI: 10.1590/S0100-84042010000100010

TEMPERATURA Y PRESIÓN OSMÓTICA DEL CRECIMIENTO *in vitro* DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Kynzú Berenice Castro Valdez¹, Carlos Alfonso López Orona^{✉2}, Mitzi Dayanira Estrada Acosta², Tomás Díaz Valdés², Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz² y Felipe Ayala Tafoya².

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa,

²Profesor e Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

A.C. Autores para correspondencia: kynzuberenice@gmail.com y clopezorona@uas.edu.mx.

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más consumidas en el mundo y es atacada por numerosas enfermedades, entre las cuales, está la marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El patógeno, por ser habitante del suelo, es difícil de manejar. Una vez el suelo se infesta puede permanecer con el patógeno por tiempo indefinido. Debido al cultivo sucesivo de tomate en el mismo lugar, la población del hongo aumenta y, por ende, la incidencia de la enfermedad. Aún no se han establecido umbrales de daño económico ni sistemas de predicción, pero se conocen algunas condiciones del suelo y bajo distintas temperaturas, se puede disminuir la incidencia de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en medios sólidos y líquidos. Para los medios sólidos se sembró (Fol) en PDA con adición de 2 tipos de sales (KCl y NaCl) y seis presiones osmóticas diferentes (0, 13.79, 41.79, 70.37, 99.56, 114.54 bares) posteriormente se incubaron a 15°, 25° y 35°, a los 4 días de incubación se realizó medición perpendicular considerándose como resultado la media de las 5 repeticiones, para los medios líquidos se realizaron lavados con las mismas concentraciones de presiones osmóticas en medios previamente cultivados en PDA+KCl, se realizaron pruebas de germinación conídica y conteo de esporas a las 0, 24 y 48 horas. Se utilizará un diseño bloques al azar con arreglo factorial.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most consumed vegetables in the world and is attacked by numerous diseases, including the vascular wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The pathogen, being an inhabitant of the soil is difficult to manage. Once the soil is infested, it can remain with the pathogen indefinitely. Due to the successive cultivation of tomato in the same field the population of the fungus increases and, consequently, the incidence of the disease. The objective of this study was to analyse the effect of temperature and osmotic pressure on the *in vitro* growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in solid and liquid media. For the solid media was sown (Fol) in PDA with addition of 2 types of salts (KCl and NaCl) and six different osmotic pressures (0, 13.79, 41.79, 70.37, 99.56, 114.54 bars) were subsequently incubated at 15 °, 25 ° and 35 °, at 4 days of incubation was carried out perpendicular measurement considering as a result the average of the 5 replicates, for the liquid means were washed with the same concentrations of osmotic pressures in previously cultivated media in PDA+KCl, Conídica germination and spore count tests were performed at 0, 24 and 48 hours. A random blocks design will be used with factorial arrangement.

INTRODUCCIÓN

Según la FAO (2016), el 52 % de la superficie destinada al cultivo de tomate en 2013 se concentró en cuatro países: China (20.9 %), India (18.8 %), Turquía (6.6%) y Nigeria (5.8 %). México ocupa la décima posición mundial, con el 1.9 % de la superficie cosechada de esta hortaliza.

La producción de tomate en México creció a una tasa promedio anual de 3.3 % entre 2005 y 2015, para ubicarse en 3.1 millones de toneladas. Durante ese período, la superficie total destinada a este cultivo disminuyó a una tasa promedio anual de 3.8 %. En 1980 se sembraron 85,500 ha, en el 2000 se sembró un área de 75,900 ha y en 2015 la superficie establecida fue 50,596 ha. La producción de éste cultivo está altamente concentrada; en 2015 cinco entidades produjeron el 54.1 % del total nacional, de los cuales Sinaloa aportó el 27.4 %, Michoacán y San Luis Potosí con 7.2%, Baja California contribuyó con 7.1% y Jalisco con 5.2%. En el mismo año, el 51 % de la cosecha se obtuvo durante el ciclo Primavera-Verano (P-V) y el 49 % en el ciclo Otoño-Invierno (O-I) (FIRA, 2016)

En Sinaloa el cultivo se establece principalmente en los municipios de Ahome, Culiacán y Guasave. En el Estado se siembran aproximadamente 19,000.00 ha, con una producción de 1, 424,571 toneladas, y un valor de poco más de 3.5 millones de pesos, lo que significa una importante fuente de empleos y divisas para esta zona (SIAP, 2017)

La exportación de este cultivo a los Estados Unidos de América, genera anualmente ganancias mayores a un millón de dólares. Sin embargo, Medina-Ríos (2011) menciona que en los últimos años la superficie dedicada al cultivo de tomate tuvo un decremento gradual debido a diversos factores; entre ellos, la incidencia creciente de plagas y enfermedades. Dentro de esta última, en la región, los problemas son principalmente de origen fungoso los cuales provocan grandes pérdidas de rendimiento y calidad de la cosecha como el caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Este patógeno se caracteriza por su potencial destructivo, su facilidad de propagación local y persistencia en el suelo. Esta enfermedad está identificada como una de las más devastadoras en todas las regiones del mundo donde se cultiva tomate (Marlatt *et al.*, 1996)

Según Booth (1971), los hongos del género *Fusarium* tienen una amplia distribución en el mundo y una gran importancia desde el punto de vista agrícola y económico. Su ocurrencia es cosmopolita y las diversas especies son comunes en el suelo, en el aire y en el agua. Diversas especies de *Fusarium* tienen una gran capacidad de causar enfermedades en distintos tipos de cultivos. Algunas especies pueden causar infecciones y otras pocas producen toxinas; todas afectando al hombre y animales. Las enfermedades de las plantas ocasionadas por especies del género *Fusarium* consisten en marchitamientos vasculares, manchas y añublos de las hojas, pudrición de raíces y de tallos, pudrición de frutos, granos y semillas (Nelson, 1990)

Aspectos Biológicos y Patológicos de la Especie *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es una especie de gran importancia fitopatológica, con mayor número de plantas hospedantes y que causa considerable daño económico. La especie tiene la capacidad de atacar un gran número de plantas de importancia agrícola y ocasiona principalmente

marchitamientos vasculares, seguidos de la muerte de la planta (Nelson, 1990). Algunas especies pueden provocar pudrición de corona y raíces de algunas plantas.

Variación de los Hongos del Género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*

Una de las dificultades encontradas para la identificación de las especies es la frecuente variación analizada en las características culturales de las colonias del hongo y en el tamaño de las esporas tanto del género *Fusarium*, como de la especie *F. oxysporum*. Una de las posibilidades de modificar diversos aspectos patológicos es mediante la ocurrencia de mutaciones, pero la frecuencia observada en las formas especiales de *F. oxysporum* es muy baja. La recombinación genética examinada en la especie *Fusarium oxysporum* es bastante baja, ya que no se le conoce fase sexual y, por lo tanto, no se presenta recombinación genética por este método de reproducción (Kistler, 1997).

Marchitamiento vascular del tomate por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

El ciclo de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* se inicia con la presencia del inóculo en el suelo o en residuos de cosecha. El inóculo es constituido por hifas, esporas o clamidiosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate. La marchitez del tomate se debe a que el hongo invade la planta bien sea de forma activa a través de las raíces o pasivamente a través de orificios en la zona callosa esquejes jóvenes. Después de la penetración el patógeno se desarrolla dentro del sistema vascular de la planta. Los vasos, en especial del xilema son bloqueados y destruidos de manera que el transporte del agua y nutrientes del mismo se dificulta, que conduce al marchitamiento parcial o total de la planta. El micelio que desarrolla en las lesiones de la base del tallo, genera una gran cantidad de conidios que son diseminados por el viento y el agua para iniciar nuevos puntos de infección (Haglund y Kraft, 2001).

Efecto de la salinidad en el suelo sobre el género *Fusarium*

El estrés hídrico implica un debilitamiento de las plantas debido a un aporte inadecuado de agua, aunque su causa no es únicamente la falta del elemento líquido. Es decir, de cómo retienen el agua las diferentes partículas que componen el suelo y de cuantos solutos están disueltos en la solución acuosa libre del suelo, siendo ambos negativos.

El potencial hídrico de las células vegetales es la suma del potencial osmótico (negativo) y del potencial de presión, que puede ser positivo o negativo.

En relación a los hongos, el potencial del agua será la suma del potencial osmótico y de turgencia.

En cuanto a los efectos restrictivos sobre el crecimiento del patógeno. Existe una estrecha relación entre la influencia del potencial hídrico sobre la enfermedad y su influencia sobre el crecimiento del patógeno (Cook y Papendick, 1970). Patógenos vasculares como *F. oxysporum* (Papendick *et al.*, 1971) parecen tener la capacidad de crecer a potenciales menores de -100 bares.

Es de sobra conocido el efecto perjudicial que las condiciones de alta salinidad presentes en el suelo o en el agua de riego tienen sobre el desarrollo normal de las plantas. El estrés salino es

uno de los principales factores negativos a los que están sometidas la raíces de la plantas, la toxicidad se produce como consecuencia de la absorción y acumulación de iones salinos. Los iones Na⁺ o Cl⁻ pueden acumularse en las hojas, raíces y otros tejidos de las plantas afectando gravemente las reacciones metabólicas, así como propiciando la aparición de manchas necróticas o necrosis marginales de las hojas (Bernstein, 1969)

HIPÓTESIS

La salinidad y la temperatura tienen un efecto en el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* así como en la germinación y viabilidad de sus esporas, viéndose afectados diferencialmente por el potencial osmótico del medio.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICO

General:

- Analizar la influencia de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Específico:

- Conocer el efecto de la salinidad en la germinación y viabilidad de las esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- Analizar el efecto de la temperatura en el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se realizará un muestreo dirigido (Krebs, 1998) en predios cultivados con tomate en el estado de Sinaloa, ubicado a los 25° 00' 10" de latitud norte y a los 107° 30' 10" de longitud oeste, el cual tiene una altitud máxima de 2800 msnm.

Aislados utilizados en los ensayos de salinidad y temperatura

Se utilizaran cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de raza 1, 2 y 3, procedentes de los muestreos en predios comerciales de tomate del estado de Sinaloa durante el ciclo otoño-invierno 2016-2017. Además se utilizaran, como testigos, cepas de *Fusarium oxysporum* saprofitas, es decir que se alimentan de pura materia orgánica muerta.

Medios de cultivo utilizados en laboratorio

El medio de cultivo empleado para el estudio del crecimiento de los distintos aislados será PDA (patata, dextrosa, agar), tanto puro como modificado por la adición de distintas cantidades de NaCl y KCl para conseguir determinadas presiones osmóticas. (Cuadro 1). Dichas presiones se basan en la propuesta de BESRI (Besri, 1981)

Cuadro 1. Relaciones entre el potencial osmótico del medio ($\psi\pi$) y las concentraciones de NaCl y KCl.

$\psi\pi$ en bares	Cantidad de producto (g L ⁻¹ de PDA)	
	NaCl (2)	KCl (2)
-1.50 (1)	0.0	0.0
-13.79	17.6	22.2
-41.70	52.0	68.8
-70.37	84.8	112
-99.56	115.2	152.8
-144.54	156.6	212.5

(1) COOK (1973)

(2) JAKOBSEN *et al.*, (1972)

Los valores del potencial osmótico del agua (ψ) se obtienen por la fórmula:

$\psi = (RT/V) \cdot \text{Log } a_w = 10,6T \cdot \text{Log } a_w$ siendo: R: constante de los gases perfectos

V: volumen de 1 mol de agua T: temperatura a_w : actividad del agua

Estudio del crecimiento micelial

Cada uno de los aislados, previamente identificados, se replicará del medio selectivo Komada (Tello *et al.*, 1991) a medio PDA. Se incubaran en cámara a 25° C y oscuridad. Se repetirá de nuevo la operación de repicado y se incubaran 2 placas de cada uno de los aislados entre 7 y 14 días, hasta tener un tamaño suficiente para poder tomar 6 discos de 1 cm de diámetro de cada una de las colonias.

Cada presión osmótica será ensayada a las tres temperaturas. Para ello se sembrarán discos, de 1 cm de diámetro de cada aislado, 5 placas (5 repeticiones), más una placa control sin sal.

Una vez sembrados los aislados, las placas Petri se introducirán en estufa y oscuridad a las temperaturas ensayadas (15, 25 ó 35° C) durante 4 días.

De esta manera se valoraran 2 sales (NaCl y KCl) con 5 presiones osmóticas distintas, más el testigo sin sal, a 3 temperaturas.

Medición del crecimiento

Transcurridos los 4 días, las placas se extraerán de la cámara y se medirá el tamaño de la colonia. Para ello se tomarán dos diámetros perpendiculares y se medirán con regla graduada de 1 mm de precisión.

Se considerará crecimiento micelial en cada una de las placas a la media aritmética de dichos diámetros, restando el diámetro del disco sembrado (1 cm).

Se tomará como medida del crecimiento de cada uno de los aislados, para cada combinación de temperatura y salinidad, la media aritmética de las 5 repeticiones.

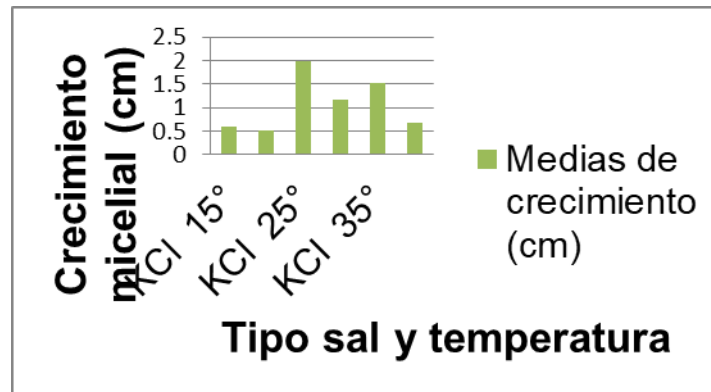
Diseño experimental y análisis de datos

Se establecerá un diseño completamente al azar donde cada temperatura y presión osmótica será evaluada con cinco repeticiones.

Los datos obtenidos serán sometidos a una prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas. Posteriormente, se realizará un análisis de varianza (ANOVA), y en caso necesario una prueba de comparación de medias Tukey $p \leq 0,05$, los análisis se realizarán con el paquete estadístico SAS 9.0.

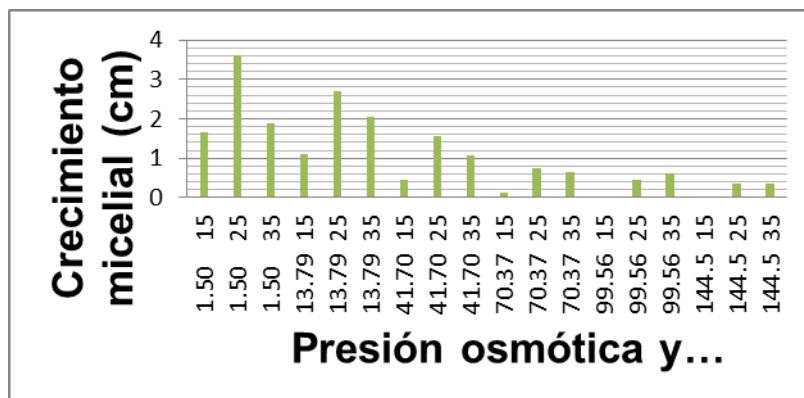
RESULTADOS

Crecimiento micelial en función de sal y temperatura



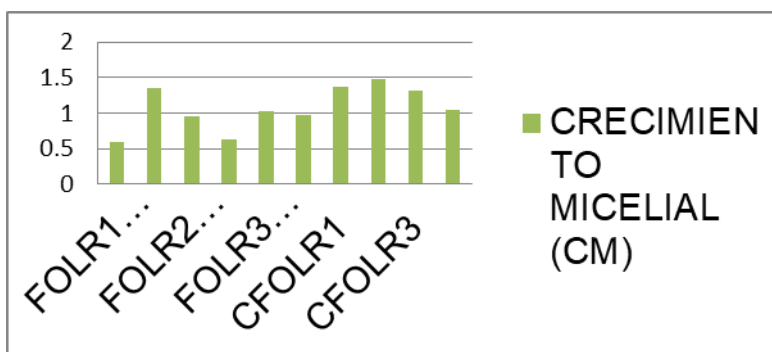
CONCLUSIÓN: Entre el NaCl a 35° y a los 15° en ambas sales no existe diferencia significativa entre ellas, a su vez KCl a 35° y NaCl a 25° son diferentes entre sí, sin embargo el KCl a 25°C es el tratamiento que influye significativamente en el crecimiento micelial del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Crecimiento micelial en función de presión osmótica y temperatura



CONCLUSIÓN: En las presiones 70.37, 99.56 y 144.50 no existe diferencia significativa entre ellas, a su vez la presión 70.37 y 41.70 son iguales entre sí, la presión 13.79 difiere de todas las anteriores y de la 1.50, siendo ésta (1.50) la presión osmótica que influye significativamente en el crecimiento micelial del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Crecimiento micelial por cepa



CONCLUSIÓN: La cepa que presentó mayor crecimiento micelial del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue la CFOLR2, siguiéndole CFOLR1, CFOLR3 y R1(-) sin diferencia significativa entre ellos, la cepa que tuvo menor crecimiento fue la R1(+)

LITERATURA CITADA

- Besri, M. 1980. Influence du potentiel osmotique de l'eau sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f sp *lycopersici* et de *Verticillium dahliae*. *Phytopathologische Zeitschrift* 99:1-8.
- Besri, M. 1981 b. Qualité des sols et des eaux d'irrigation sur et manifestation des trachéomycoses de la tomate au Maroc. *Phytopathologia. Mediterranea*. 20:107-111.
- Bernstein, L. 1969. Salinity factors and their limits for citrus culture. *Proc. Int. Citrus Symp.* 1st. 3: 1779-1782.

- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Ed. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, England. 237 p.
- Cook, R.J. and R.I. Papendick. (1970). *Effect of soil water on microbial growth, antagonism, and nutrient availability in relation to soil-borne fungal diseases of plants*. In: Tousson, T.A.; Bega, R.V. and Nelson, P.E. (Eds.). *Root diseases and soil-borne pathogens. 2nd International Symposium on Factors Determining the Behavior of Plant Pathogens in Soil*. London, England. Imperial College, July 14-28
1968. University of California. Berkeley, California, USA. p. 8188.
- Cook, R.J. 1973. Influence of low plant and soil water potentials on diseases caused by soilborne fungi. *Phytopathology* 63: 451-458.
- FAO, 2016. Panorama Agroalimentario Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial Tomate rojo 2016 www.faostat.fao.org (Consulta, octubre 2017).
- FIRA, 2016. Panorama Agroalimentario Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial Tomate rojo 2016. www.fira.gob.mx (Consulta, octubre 2017).
- Haglund, W.A.; Kraft, J.M. 2001. *Fusarium wilt*. En: Kraft, J.M. ; Pfleger, F.L. (ed.). *Compendium of Pea Diseases and Pests*. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA 14-16-84 pp.
- Jakobsen, M., O. Filtenborg and F. Bramsnaes. 1972. Germiantion and outgrowth of the bacterial spore in the presence of different solotes. *Lebensm Wiss u Technol* vol 5 n°5:159-162.
- Kistler H.C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 84: 474-479.
- Krebs, C. J. 1998. *Ecological methodology*. 2ed. Benjamin Cummings. California, EE. UU. 620 pp.
- Leslie J. F and Summerell B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing Ltd. 2006.
- Marllat, M., Correll, J., y Kaufman, P. 1996. Two Genetically Distinct Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 in the United States. *Plant Disease*, 80, 7.
- Medina-Ríos, M. 2011. Inducción de Resistencia a *Fusarium oxysporum* y Estimulación del Desarrollo Vegetal en Jitomate (*Solanum lycopersicon*) Empleando *Methylobacterium* spp. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIRIPN-MICHOACÁN. Jiquilpan, Michoacán, México. 69 pp.
- Nelson, P.E. 1980. *Life cycle and epidemiology of Fusarium oxysporum*. En M.E. Mace, A.A. Bell and E.H. Beckman (eds.). *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press. New York. p. 51-80.
- Papendick, R.I., R.J. Cook and P.J. Shipton. (1971). *Plant water stress and the development of Fusarium foot rot in wheat*. *Phytopathology* 61: 905.

SIAP, 2017. Boletín mensual de la producción tomate rojo (jitomate) www.siap.gob.mx
(Consulta, octubre 2017)

Tello, J. C., F. Varés y A. Lacasa. 1991. Análisis de muestras. En: Manual de laboratorio: Diagnostico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos. M.A.P.A. Madrid. 39-48.

NUTRICIÓN CON N,P,K Y BIOESTIMULANTES EN LA PRODUCCIÓN DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annuum* L.) EN EL NORTE DE SINALOA

Salomón Buelna Tarín, Gabriel Antonio Lugo García¹, Bardo Heleodoro Sánchez Soto¹ y Celia Selene Romero Félix¹.

¹Colegio de Ciencias s Agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Calle 16 y Avenida Japaraqui, 81110. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México.

INTRODUCCIÓN

En México, el estado de Sinaloa es el principal productor y exportador de granos, hortalizas y cucurbitáceas; la superficie cultivada es de 300,000 ha, de éstas 85,000 ha se destinan a cultivos hortícolas cada año, siendo los municipios del norte (Choix, El Fuerte, Sinaloa de Leyva, Guasave y Ahome) las principales zonas con alrededor de 48,321 ha (CESAVESIN, 2010). Es fundamental conocer los requerimientos nutrimentales de los cultivares de pimiento bajo condiciones ambientales específicas en el norte de Sinaloa, ya que en campos experimentales ha mostrado buenos rendimientos.

Eroski (2010) afirma que los bioestimulantes enraizadores (hormonales) son formulaciones a base de varios compuestos químicos incluyendo hormonas, aminoácidos, vitaminas, enzimas y elementos minerales, y son los más conocidos y de uso común en la agricultura; la concentración hormonal en los bioestimulantes casi siempre es baja (menos de 0,02% o 200 ppm de cada hormona), así como también la de los demás componentes de la formulación. La fertilización foliar es una técnica agronómica comúnmente utilizada en el norte de Sinaloa. Es considerada como un complemento de la fertilización de base (Trinidad y Aguilar, 1999), como el medio más rápido de absorción para que las plantas utilicen los nutrientes (Alexander, 1986) el medio más eficaz de aplicación del fertilizante (Sinclair y De Wilt, 1976).

Por tal motivo, esta investigación tiene como finalidad generar conocimiento del efecto de las aplicaciones foliares comerciales en el de chile jalapeño bajo condiciones de invernadero y campo abierto, debido a que en el norte de Sinaloa se carece de información sobre el efecto de estas aplicaciones. El chile se ubica entre las ocho hortalizas más cultivadas en el mundo con una producción de alrededor de 31.167 millones de toneladas (SIAP, 2012) debido a sus diversos usos, como son: alimenticios, medicinales, industriales y ornamentales (Sánchez *et al.*, 2011); a nivel internacional, México ocupa el segundo lugar en la producción de chiles, dedicándole más de 140,000 ha para el cultivo de este fruto, así como también es considerado líder de exportación con un comercio de 845 000 t, generando alrededor de 560 millones de dólares en 2014 al cultivar 50 variedades, entre las que destacan el jalapeño, serrano, poblano, morrón, pasilla, guajillo y habanero (SAGARPA, 2015). Sin embargo, el chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) es considerado el de mayor importancia económica debido a su amplio consumo, alta rentabilidad y gran demanda de mano de obra (SIAP, 2010). En el año 2012, en Sinaloa la superficie cosechada de chile jalapeño fue de 2931 ha, con una producción de 69 783 t, con rendimiento promedio de 23.81 tha⁻¹ y valor total de producción de 423 millones de pesos.

Además de los plaguicidas se ha adoptado la práctica de aplicar productos bioestimulantes de crecimiento los cuales en la región su efectividad no está debidamente probada en el norte de Sinaloa, a diferencia del Colegio de Posgraduados donde se han hecho experimentos condiezaplicaciones de foliares (Trejo, 2003), mientras que aquí en la región se realizan más aplicaciones a nivel campo con el objetivo de obtener mayores rendimientos. Para llevar a cabo el cultivo chile jalapeño en Sinaloa se requiere mano obra para las labores de corte y empaque, por lo cual se genera una derrama económica considerable activando la economía regional, estatal y nacional. Después de este estudio propuesto se conocería el comportamiento de las variedades acerca de los híbridos de pimiento y de esta manera proporcionar al productor los conocimientos necesarios para su manejo agronómico y fertilización óptima.

El crecimiento y desarrollo de las plantas requiere en gran cantidad, principalmente, de los macroelementos nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre, mientras que en cantidades pequeñas están los microelementos manganeso, zinc, hierro, cloro, boro y molibdeno. En seguida se describen las funciones relevantes de los macroelementos: a) El nitrógeno interviene en los procesos de desarrollo, crecimiento y multiplicación de las plantas e influye, de manera directa, en la asimilación y formación de hidratos de carbono (azúcares) que al final se ven como resultados en las cosechas con alto índice de producción (Andrango, 2015). b) El fósforo desempeña una función importante en el desarrollo del sistema radicular, interviene en la formación de tejido leñoso y además en la fructificación, formación y maduración del fruto y es esencial en la formación de semillas. Se considera un nutriente móvil por floema y se observan las deficiencias primero en las hojas viejas, para luego ser redirigido a las hojas jóvenes y brotes en desarrollo (Ross, 2013). Además, interviene en la maduración temprana de los frutos, especialmente, en los cereales y en la calidad de la cosecha, dando más consistencia al grano y da resistencia al tallo, ayudando a prevenir la tumbada (Suquilanda, 2010). c) El potasio promueve el desarrollo y crecimiento de flores y frutos; da resistencia a las plantas contra plagas y enfermedades, heladas y sequías; determina la mayor o menor coloración en flores y frutales y el sabor en éstos últimos, por lo tanto, es esencial para la formación de almidones y azúcares, además de regular los procesos de fotosíntesis (Andrango, 2015). d) El calcio es requerido por todas las plantas, ya que actúa como regulador de crecimiento e interviene en la formación de tejidos, en la división celular, en el crecimiento de meristemas y en la absorción de nitratos (Ross, 2013). e) El magnesio es el principal componente de la molécula de clorofila, de allí su importancia en el proceso fotosintético, la coloración verde intensa de la hoja, así como en la absorción y metabolismo del fósforo, potasio y la acumulación de azúcares (Ross, 2013).

En la producción de hortalizas de excelente calidad, la producción de plántulas es una de las etapas relevantes en el ciclo del cultivo, ya que tiene significativa influencia en las respuestas de la planta, desde el punto de vista nutricional (Andrango, 2015) y productivo, dado que existe una relación directa entre plántulas sanas y vigorosas y la producción en campo abierto (Guimaraes *et al.*, 2002). Para obtener un cultivo hortícola exitoso se requiere de una nutrición mineral adecuada, la cual consiste en macro y microelementos, un sustrato y agua de cantidad y calidad adecuada. Los suelos agrícolas regionales en los cuales se cultiva el chile jalapeño generalmente son suelos arcillosos con un PH ligeramente alcalino, en estas condiciones,

algunos nutrientes no están disponibles para las plantas, por lo tanto se recomiendan de aplicaciones foliares (Marschner, 1995).

Existe una falta de experimentos que justifiquen las aplicaciones foliares de macro y microelementos para optimizar la nutrición de este cultivo.

Las investigaciones recientes con fertilización foliar han sido intensas en la búsqueda de una tecnología precisa para la aplicación de los nutrimentos en la cantidad y manera más efectiva, pero aún falta mucho por conocer sobre los tres factores que afectan la fertilización foliar y el efecto de las interacciones que hay entre planta-ambiente-fórmula.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Actualmente en el manejo de la nutrición en cultivo de chile jalapeño se incluyen alrededor de diez aplicaciones foliares por ciclo de cultivo, a pesar de que no siempre se trata de la misma variedad. Las variedades pueden dar diferentes respuestas a los mismos tratamientos de fertilización foliar (Trejo-téllez, 2003). Estas aplicaciones se ha vuelto una práctica común en la región, con el afán de proteger al cultivo de mermas en el rendimientos, además dichas aplicaciones no están debidamente probadas en la región ni en variedades de reciente disponibilidad, por lo cual se hace necesario un estudio sobre nutrición, aplicación de bioestimulantes, su número de aplicaciones y las interacciones entre las combinaciones entre nutrientes y bioestimulantes.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la producción de biomasa y rendimiento de chile jalapeño con calidad de exportación sometido a diferentes tratamientos de nutrición base y con aplicaciones foliares de nutrientes y bioestimulantes de crecimiento y producción.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

-Evaluar en invernadero la producción de biomasa de plantas de chile jalapeño con una nutrición base.

-Evaluar la producción de biomasa con nutrición base suplementada con aplicación de nutrientes foliares en invernadero y campo abierto.

-Evaluar la producción de biomasa con nutrición base suplementada con nutrientes foliares y bioestimulantes en invernadero y campo abierto.

HIPÓTESIS.

La fertilización foliar tiene un efecto positivo en el crecimiento de raíces, tallo, hoja y cantidad de frutos de chile jalapeño de los cultivares Bravo y Bronco de la empresa Vilmorín.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio Los experimentos se realizaron en un invernadero de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (FAVF; Figura 1), localizada en la Colonia El Estero,

Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México (108°49'23" longitud Oeste y 25°45'57" latitud Norte y 10 msnm). El clima es húmedo cálido con temperatura media anual de 25.9°C, temperatura mínima y máxima anual de 18 y 33.9°C, respectivamente; siendo la temporada más calurosa la que va de mayo a octubre, y la más lluviosa de julio a octubre, con una precipitación promedio anual de 383.1 mm (Estación 25048 CONAGUA-DGE, Cuenca Lechuguilla-Ohuira-Navachiste).

Material vegetal.

Las semillas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) de los cultivares Bravo y Bronco se obtuvieron de la empresa Vilmorin (Ahern seeds).

Diseño experimental.

Para probar el efecto de distintas soluciones nutritivas comerciales y experimentales en la calidad de plántula de dos hortalizas de mayor relevancia en el norte de Sinaloa, se realizarán tres ensayos de experimentación. El primero ensayo para evaluar la respuesta de dos cultivares de chile jalapeño bajo un diseño completamente al azar bajo condiciones de invernadero, mientras que los dos ensayos posteriores se realizarán a campo abierto con diseños completamente al azar con arreglo factorial para incluir la interacción cultivar*foliar. En chile jalapeño se aplicarán tres tratamientos foliares de las marcas comerciales más utilizadas en la región.

Variables de respuesta.

Posteriormente al establecerse en campo se analizarán las variables: 1) Longitud de tallo (LT), 2) Diámetro de tallo, 3) número de flores (NF), 4) Número de frutos por planta (NFP) y 4) peso de fruto por planta (PFP). Al final del experimento se analizará la variable de Peso Seco de la Planta y Volumen de la Raíz (VR).

Análisis estadístico.

Los datos obtenidos en cada una de las variables evaluadas se someterán a pruebas de normalidad de Shapiro y Wilk (1965). Las variables que muestren normalidad en sus datos, se someterán al análisis de varianza de una vía; la separación de medias se realizará con la prueba de Rangos Studentizados de Tukey al 5%, mientras aquellas variables que no cumplan con el supuesto de normalidad, aun cuando sean transformadas, se optará por el análisis Kruskal-Wallis y la comparación de Wilcoxon al 5%. Todos los análisis estadísticos se efectuarán con ayuda de SAS versión 9.2 para Windows (SAS Institute, 2009).

LITERATURA CITADA

Alexander, A. 1986. Optimum timing of foliar nutrient spray. In: Alexander, A. (ed.). pp. 44-60. Foliar fertilization. MartinusNijhoff. Dordrecht, The Netherlands.

Andrango-Vaca, J. C. 2015. Determinar el rendimiento a la aplicación de tres niveles de fertilización con dos bioestimulantes enraizadores en el cultivo de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) en la zona de Ibarra, provincia de Imbabura. Tesis de Licenciatura en

Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Babahoyo. Zona de Ibarra, provincia de Imbabura, Ecuador.

Chauhan, V. L.; Singh, R. V. and Raghav, M. 2005. Optimum nitrogen and phosphorus fertilization in hybrid capsicum. *Vegetable Science*. 32(2):200-202.

Eroski, W. 2010. Estudio de los bioestimulantes como mejoradores de los cultivos. Tesis de Licenciatura en Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Babahoyo. Zona El Ángel, Provincia de Imbabura, Ecuador.

Fregoni, M. 1986. Some aspects of epigeal nutrition of grapevines. pp. 205-213. In: Alexander, A. (ed.). *Proceedings of First International Symposium on Foliar Fertilization*. Schering Agrochemical Division. Boston, MA.

Guimarães, V.F.; Echer, M.M. y Minami, K. 2002. Métodos de produção de mudas, distribuição de matéria seca produtiva de plântulas de beterraba. *Hortic. Bras.* 20 (3):505-509.

Leskovar, D.I. and Stoffella, P.J. 1995. Vegetable seedling root systems: morphology, development, and importance. *HortScience*. 30(6):1153-1159.

Magdaleno-Villar, J.J.; Peña-Lomelí, A.; Castro-Brindis, R.; Castillo-González, A.M.; Galvis-Spinola, A.; Ramírez-Pérez, F. y Hernández-Hernández, B. 2006. Efecto de soluciones nutritivas sobre el desarrollo de plántulas de tomate cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 12(2):223-229.

Marschner, H. 1990. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Institute of Plant Nutrition.

Marschner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd ed. Academic Press, London.

Moreno-Pérez, E. D. C., Sánchez-del Castillo, F., González-Molina, L., Pérez Mercado, C. A., & Magaña-Lira, N. (2011). Efectos del volumen de sustrato y niveles de NPK en el crecimiento de plántulas de pepino. *Terra Latinoamericana*. 29(1):57-63.

Puerta, C. E.; Russián, T. y Ruiz, C. A. 2012. Producción de plántulas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) en sustratos orgánicos a base de mezclas con fibra de coco. *Revista Científica UDO Agrícola*. 12(2):298-306.

Ross-López, E. G. 2015. Microorganismos benéficos como biofertilizantes y antagonistas de fitopatógenos en la producción sustentable de pepino (*Cucumis sativus* L.). Tesis Licenciatura en Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.

Sánchez-Chávez, E.; Barrera-Tovar, R.; Muñoz-Márquez, E.; Ojeda-Barrios, D. L. y Anchondo-Nájera, Á. 2011. Efecto del ácido salicílico sobre biomasa, actividad fotosintética, contenido nutricional y productividad del chile jalapeño. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 17(1):63-68.

SIAP. 2012. Datos estadísticos. SIAP. México. Disponible en línea: www.sagarpa.gob.mx. Consultado el 10 febrero de 2017.

Sinclair, T.R. y C.T. de Wit. 1976. Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. *Agron. J.* 68: 653-676.

Smith, G. S.; Johnston, C. M. and Cornforth, I. S. 1983. Comparison of nutrient solutions for growth of plants in sand culture. *New Phytol.* 94:537-548.

Suquilanda, M. 1995. Guía para la producción orgánica de cultivos. Editorial UPS. Quito, Ecuador.

Trejo, T. L.; Rodríguez, M. N.; Alcántar, G.G.; Vázquez, A.A. 2003. Fertilización foliar específica para corregir deficiencias nutrimentales en tres tipos de suelo. *Terra* 21 : 365-372.

Trinidad, S. A. y Aguilar, M. D. 1999. Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra* 17:247:255.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *Neopestalotiopsis* spp. AGENTE CAUSAL DE LA MANCHA PLATEADA DEL MANGO

Saida Selene Gerardo Lugo¹, Moisés Gilberto Yáñez Juárez¹, Hugo Beltrán Peña², Juan Manuel Tovar Pedraza³, Miguel Ángel Apodaca Sánchez², Felipe Ayala Tafoya¹. Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía.

1 Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). CP 726, km 17.5 Carretera Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa, México. gerardoselene37@gmail.com. 2 Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. CP 81110. Calle 16 Av. Xaparaqui S/N., Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa. 3 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD AC). Área de Horticultura. CP 80110. Km 5.5 Carr. Culiacán-Eldorado, Campo El Diez. Culiacán, Sinaloa, México.

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es la principal fruta tropical que se produce en todo el mundo (Mosqueda *et al.*, 2017). Los principales productores son India, China, México, Indonesia, Tailandia, Pakistán, Brasil, Filipinas, Bangladesh y Nigeria (FAO, 2015). México es el mayor exportador de mango en el mundo, en 2017 la producción fue de 1,958,491.08 t y los principales estados productores son: Guerrero, Chiapas, Nayarit, Oaxaca, Michoacán y Sinaloa, donde destacan los cultivares Ataulfo, Haden, Manila, Tommy Atkins y Kent (SIAP, 2018).

Las enfermedades más importantes que limitan la producción del mango en México son: antracnosis (*Colletotrichum* spp.), malformación floral (*Fusarium* spp.), cenicilla (*Pseudoidium anacardii*) y muerte descendente (*Lasioidiplodia theobromae* y *Neofusicoccum parvum*) (Félix *et al.*, 2013; Rebolledo *et al.*, 2013; Mosqueda *et al.*, 2017). Otra enfermedad del cultivo es la mancha plateada de la hoja del mango cuyos síntomas iniciales se describen como manchas irregulares que van de unos pocos milímetros a unos pocos centímetros de diámetro, con coloración inicial amarillo-marrón que luego se tornan de color blanco a gris y se unen para formar grandes manchas plateadas. Ko (2007) reportó por primera vez este síntoma en Taiwán e identificó a *Pestalotiopsis mangiferae* como el agente causal. En huertos de Italia se relacionó a *Pestalotiopsis uvicola* y *Neopestalotiopsis clavispora* con síntomas severos de mancha plateada en hojas, ramas y panículas en cultivos de mango. La incidencia de árboles enfermos fue del 70-100% en cada uno de los huertos muestreados, con reducciones significativas del crecimiento vegetativo y producción de fruta en árboles jóvenes (Ismail *et al.*, 2013).

El género *Neopestalotiopsis* pertenece al orden Xylariales junto con los géneros *Pestalotiopsis* y *Pseudopestalotiopsis* generalmente se conocen como hongos pestalotioides, se considera importante agente causal de mancha plateada en hojas de palmeras, cocoteros, tejo japonés y té (Maharachchikumbura *et al.*, 2014). El reconocimiento de especies de éste género, utilizando fenotipos, es difícil, ya que los caracteres morfológicos utilizados para diferenciar las especies son limitados, cambiantes y varían entre los hospedadores y los ambientes (Maharachchikumbura *et al.*, 2016). Hasta marzo de 2019 están reportadas 36 especies del género *Neopestalotiopsis* (Fungorum, 2019).

En Sinaloa se reportó a *Neopestalotiopsis* spp. como agente causal de la enfermedad de mancha plateada del mango donde se analizaron 50 aislados. En la prueba de patogenicidad se encontró que la severidad en hoja desprendida varió de 1.33 a 14.28% en cv Kent, a nivel de hoja en campo estuvo en el rango de 0.19 a 65.73% del tamaño de la hoja. La incidencia a nivel plantación en 35 huertos muestreados fue de 83% (Gerardo, 2017). En México, este es el primer antecedente de presencia de hongos pestalotioides en el cultivo de mango.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Siendo Sinaloa uno de los principales estados productores de mango en México y que en estudios recientes se determinó que el agente causal de la mancha plateada de la hoja del mango es el género *Neopestalotiopsis* spp. (Gerardo, 2017), es pertinente continuar con los trabajos de investigación que permitan determinar las especies presentes y caracterizarlas para proveer información a los productores que permita mayor certeza y mejorar la sustentabilidad del cultivo de mango.

HIPÓTESIS

Existen al menos dos especies del género *Neopestalotiopsis* spp. que originan la mancha plateada del mango en Sinaloa, que muestran diferencia en virulencia, rango de hospedante y susceptibilidad a fungicidas.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar las especies del género *Neopestalotiopsis* spp. que originan la mancha plateada del mango en Sinaloa y caracterizarlas en relación a virulencia, rango de hospedante y susceptibilidad a fungicidas.

Objetivos específicos:

- 1) Determinar las especies del género *Neopestalotiopsis* spp. que originan la mancha plateada del mango en Sinaloa.
- 2) Evaluar la patogenicidad de tres especies de *Neopestalotiopsis* spp. en variedades de mango Kent, Haden, Tommy Atkins y Ataulfo a nivel hoja desprendida, fruto y en plantas de un año de edad cv Kent.
- 3) Determinar el rango de hospedantes de los aislados de *Neopestalotiopsis* spp. en frutos de arándano, fresa, guayaba, coco y litchi.
- 4) Estimar los valores de sensibilidad a fungicidas de las familias estrobirulinas y benzimidazol sobre el agente causal de la mancha plateada del mango.

5) Conocer la incidencia y severidad de la mancha plateada del mango durante el ciclo de cultivo a nivel de huerto de manejo convencional y orgánico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Determinación de especies del género *Neopestalotiopsis*

Las características macroscópicas y microscópicas se examinarán para los 20 aislados de *Neopestalotiopsis* spp. obtenidos de las muestras con síntomas de hoja plateada. Para determinar la tasa de crecimiento micelial de cada aislado se usará la técnica propuesta por Zervakis *et al.* (2001). Las colonias con cinco días de crecimiento se caracterizarán de forma visual y se registrará el color de la colonia, forma y textura. El diseño experimental será completamente al azar con 21 tratamientos y 5 repeticiones por tratamiento con un total de 105 unidades experimentales por bioensayo. El experimento completo se hará por duplicado. Con la tasa de crecimiento micelial por aislado se realizará un análisis de varianza con el Sistema de Análisis Estadístico (SAS®) (ANDEVA; $P < 0.01$) y la prueba de rango múltiple Ryan-Einot-Gabriel-Welsch (REGW) se usará para separar medias ($\alpha = 0.05$). Para estudiar la morfología conidial, se montarán esporas en agua destilada, a partir de las colonias con crecimiento de 10 días y se examinarán en un microscopio compuesto (Labomed® Labo American Inc EE.UU.). El sistema de análisis de imágenes Carl Zeiss (MicroImaging GmbH Alemania) se usará para determinar la forma y tamaño de cada una de las células del conidio (largo y ancho), así como el número y largo de los apéndices (apicales y basales), se medirán 50 conidios por aislado. Se realizará un análisis de varianza para los parámetros de largo y ancho de las células del conidio, apéndice apical y apéndice basal con el programa estadístico SAS® (ANDEVA; $P < 0.01$) y la prueba de REGW se usará para separar medias ($\alpha = 0.05$).

La extracción del DNA, la amplificación por PCR y secuenciación se realizará de acuerdo a lo descrito por Gerardo (2017). Para el análisis filogenético la región consenso de las secuencias obtenidas se generará usando el programa Pregap4. La alineación de las secuencias se realizará con el programa MEGA5 y se ajustará manualmente donde sea necesario. Se obtendrán las secuencias tipo de las especies de *Neopestalotiopsis* disponibles en la base de datos del GenBank. Para el análisis de Máxima Verosimilitud se utilizará el programa PAUP v. 4.0b10 y para el análisis bayesiano MrBayes v.3.0b4. El análisis de Máxima Verosimilitud se realizará utilizando la opción de búsqueda heurística con 1000 taxones al azar. Se registrará la longitud del árbol (TL), índice de consistencia (CI), índice de retención (RI), y el índice de homoplastia (HI) para todos los análisis.

Prueba de patogenicidad en hoja desprendida y planta

La prueba de patogenicidad se realizará con 12 aislados que corresponden a tres especies del género *Neopestalotiopsis* de acuerdo a la metodología descrita por Ismail *et al.* (2013), con algunas modificaciones. Para la prueba en hoja desprendida se utilizarán hojas asintomáticas de color verde (maduras) recién desprendidas de plantas de mango de los cultivares Kent, Haden, Tommy Atkins y Ataulfo. Las hojas se lavarán con agua corriente y jabón neutro; se

desinfestarán por contacto con un algodón impregnado con etanol al 70% y se dejarán secar en la campana de flujo laminar sobre papel absorbente estéril. Se usarán tres hojas por cada cultivar y aislado. En las hojas se realizará una herida puntiforme con ayuda de un palillo de madera estéril y sobre ésta se depositará 20 μL de una suspensión de esporas a una concentración de 1×10^6 conidios mL^{-1} . Enseguida las hojas se depositarán sobre papel absorbente humedecido con agua destilada estéril y se colocarán dentro de una bolsa de polietileno transparente, para crear una cámara húmeda y generar condiciones favorables para el desarrollo del patógeno. Como control, se colocarán hojas de mango en cámara húmeda y se asperjará agua destilada estéril en lugar de esporas. El material vegetal se incubará a temperatura ambiente de laboratorio $25^\circ\text{C} \pm 1$ durante 10 días y enseguida se registrará el porcentaje de severidad, midiendo el tamaño de la lesión con respecto al tamaño de la hoja. Para la prueba en planta, se utilizarán plantas del cultivar Kent y se inocularán cuatro aislados por especie, se usarán tres plantas por cada aislado en los cuales se asperjará la misma concentración de esporas usada para el ensayo de hoja desprendida, de igual manera para el testigo se usará agua destilada y se colocará en condiciones de invernadero $25^\circ\text{C} \pm 1$ durante 10 días en condiciones de alta humedad. El diseño experimental será completamente al azar con cuatro tratamientos y 20 repeticiones por tratamiento con un total de 80 unidades experimentales por bioensayo. La severidad se estimará mediante el procesamiento y análisis de imágenes digitales (PAID) y el programa ImageJ 1.48r (Sauceda *et al.*, 2015). En ambos ensayos, el patógeno se reaislará de las lesiones de tejido vegetal para concluir con los postulados de Koch. Los ensayos se realizarán por duplicado. El análisis de varianza se realizará con el SisteSAS® (ANDEVA; $P < 0.01$), y la prueba de REGW se usará para separar medias ($\alpha = 0.05$).

Prueba de patogenicidad en fruto de mango y en hospedantes alternos

La prueba de patogenicidad en fruto se realizará con los mismos 12 aislados de *Neopestalotiopsis* spp. evaluados en la prueba anterior, los cuales se inocularán en frutos en la primera fase de color de inicio de la maduración de los cultivares Kent, Haden, Tommy Atkins y Ataulfo, se usarán tres frutos por aislado. La inoculación del patógeno se realizará de acuerdo a la metodología descrita por Ara *et al.* (2012), con algunas modificaciones. Los frutos se lavarán con agua corriente y jabón neutro, se sumergirán en etanol al 70% y después en hipoclorito de sodio al 1% por un minuto en cada solución, se enjuagarán dos veces en agua destilada estéril y se secarán con papel absorbente estéril. Enseguida, se realizará una punción en cada fruto con la ayuda de un palillo de madera estéril, sobre la herida se depositará 20 μL de una suspensión de esporas a una concentración de 1×10^6 conidios mL^{-1} . En el testigo se realizará el mismo procedimiento pero se inoculará con agua destilada estéril en lugar de conidios. Los frutos se colocarán en charolas de plástico sobre papel humedecido con agua destilada estéril y se introducirán en bolsa de polietileno transparente, para crear una cámara húmeda y generar condiciones favorables para el desarrollo del patógeno. El material se incubará a temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 1$ durante 10 días y luego se registrará el tamaño de la lesión con ayuda de un vernier digital. El diseño experimental será completamente al azar con cuatro tratamientos y 20 repeticiones por tratamiento con un total de 80 unidades experimentales por bioensayo. Para la prueba en hospedantes alternos en frutos de arándano, fresa, guayaba,

coco y litchi, se realizará el mismo procedimiento descrito para frutos de mango. El experimento se realizará en dos ocasiones. En ambos ensayos, el patógeno se reaislará de las lesiones de tejido vegetal para concluir con los postulados de Koch. El análisis de varianza se realizará con SAS® (ANDEVA; $P < 0.01$), y la prueba de rango múltiple REGW se usará para separar medias ($\alpha = 0.05$).

Prueba de sensibilidad a fungicidas

La sensibilidad a fungicidas se determinará con base a ensayos de inhibición del crecimiento micelial de 20 aislados mediante la técnica usada por Santos (2019), se utilizarán formulaciones comerciales de tres fungicidas, dos de la familia química de las estrobirulinas (Tega®, BAYER y Amistar®, SYNGENTA) y uno de la familia química de benzimidazol (Tecto 60®, SYNGENTA) para cada uno de los fungicidas se preparará una suspensión madre con agua destilada estéril y se agregará al medio de cultivo PDA, después de la esterilización para obtener concentraciones de 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 y 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ basadas en el ingrediente activo y las recomendaciones del fabricante. Cajas Petri sin fungicida servirán como testigo. Todas las cajas con medio PDA con fungicida se prepararán 24 h antes de usarlas en la prueba y se mantendrán en oscuridad continua a 10°C. Del margen con crecimiento activo de una colonia de cinco días de edad se tomarán discos miceliales de 5 mm y se colocarán en el centro de las cajas Petri con medio PDA y fungicida en cada una de las concentraciones señaladas anteriormente. Las cajas se incubarán durante seis días a 28°C en oscuridad continua. Para cada aislado, se usarán tres repeticiones por concentración. El diámetro de la colonia de cada caja Petri se medirá perpendicularmente en dos direcciones y se promediará. El diámetro del disco de agar se restará del diámetro de la colonia antes de realizar el análisis de datos. El experimento se realizará dos veces. Para cada aislado, se calculará la concentración efectiva que inhibe 50% del crecimiento micelial (CE_{50}) mediante una regresión lineal del porcentaje de inhibición relacionado con el crecimiento micelial del testigo contra la transformación del \log_{10} , para cada una de las concentraciones usadas con SAS®, se verificará que no haya diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las repeticiones de experimento.

Determinación de incidencia y severidad de mancha plateada mediante un ciclo de cultivo

El monitoreo de la intensidad de la enfermedad de la mancha plateada de la hoja del mango en campo, se realizará tomando como variables de estudio la incidencia y severidad de hongos pestalotoides, mediante el seguimiento de cuatro huertas, dos con manejo convencional y dos de producción de fruta orgánica. En cada huerto se marcarán 100 árboles del centro de la plantación y se registrará la presencia o ausencia de síntomas característicos de la mancha plateada por árbol, cada mes y durante dos años para determinar la distribución espacial y temporal de la enfermedad. Para determinar la severidad, cada mes y en cada huerto se

colectarán 100 hojas con síntomas de la mancha plateada del mango, se llevarán al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agricultura del valle del Fuerte donde se lavarán con agua corriente y jabón neutro para eliminar impurezas, se secarán con papel absorbente, luego se colocarán en prensa botánica por 15 min y se digitalizarán con escáner HP Officejet Pro 6830. Las imágenes digitalizadas se utilizarán para estimar la severidad de la enfermedad mediante PAID y el programa ImageJ 1.48r (Sauceda *et al.*, 2015). Este proceso permitirá la discriminación del área dañada por la mancha plateada y el resto de la superficie foliar. El análisis de varianza se realizará con SAS® (ANDEVA; P <0.01), y la prueba de rango múltiple REGW se usará para separar medias ($\alpha = 0.05$).

LITERATURA CITADA

Ara I., Rizwana H., Al-Othman M., Bakir M. 2012. Antagonism of actinomycete against *Pestalotiopsis mangiferae*, causal agent of mango brown rot in postharvest storage. African Journal of Microbiology Research 6:1782-1789. ISSN 1996-0808; DOI: 10.5897/ AJMR-11-1254.

FAO. 2015. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://faostat.fao.org/> (consulta, enero 2018).

Félix G. R., Herrera R. G., Martínez V. C., Longoria E. R. M., Maldonado M.I., Quiroz F. F., Martínez A.J., García P. L. M., Espinosa M. S. 2013. First report of powdery mildew (*Pseudoidium anacardii*) of mango trees in Sinaloa, México. Plant Disease 97:994. ISSN: 0191-2917; DOI:10.1094/PDIS-11-12-1014-PDN.

Fungorum. 2019. Index fungorum. <http://www.indexfungorum.org/names/Names.asp> (consulta, marzo 2019).

Gerardo L. S. S. 2017. Identificación del agente causal de la mancha plateada de la hoja del mango (*Mangifera indica* L.) en el estado de Sinaloa. Tesis.

Ismail A., Cirvilleri G., Polizzi G. 2013. Characterization and pathogenicity of *Pestalotiopsis uvicola* and *Pestalotiopsis clavisporea* causing grey leaf spot of mango (*Mangifera indica* L.) in Italy. Europe Journal Plant Pathology 135:619-625. ISSN: 0929-1873; DOI 10.1007/s10658-012-0117-z.

Ko Y. 2007. First report of gray leaf spot of mango (*Mangifera indica*) caused by *Pestalotiopsis mangiferae* in Taiwan. Plant Disease 91:1684. ISSN: 0191-2917; <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-91-12-1684B>.

Maharachchikumbura S., Hyde K., Groenewald J., Xu J., Crous P. 2014. *Pestalotiopsis* revisited. Studies in Mycology 79:121–186. ISSN: 0166-0616; <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.005>.

Maharachchikumbura S., Laringnonl P., Hyde D., Al-Sady A., Liu Z. 2016. Characterization of *Neopestalotiopsis*, *Pestalotiopsis* and *Truncatella* species associated with grapevine trunk

diseases in France. *Phytopathologia Mediterranea* 55:380–390. ISSN 1593-2095, DOI: http://dx.doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-18298.

Mosqueda V. R., Pérez B. M., Osuna G. J., Nolasco G. Y. 2017. El mango en el contexto nacional e internacional. El mango su cultivo, fitosanidad y comercialización. Primera edición. Colegio de Postgraduados. México. 276p. ISBN: 970-18331934.

Rebolledo M. A., del Ángel P. A., Peralta A. N., Díaz P. G. 2013. Control de fumagina (*Capnodium mangiferae* Cooke & Brown) con biofungicidas en hojas y frutos de mango manila. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 16:355-362. E-ISSN: 1870-0462; <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93929595007>.

Santos K. M., Tsuji S. S., Câmara M. P., Michereff S. J., Lopes U.P. 2019. Sensitivity to methyl benzimidazole carbamate fungicides of Botryosphaeriaceae species from mango orchards in the Northeast of Brazil. *Europe Journal Plant Pathology* 153:209–222. ISSN: 0929-1873; <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1556-y>.

Sauceda A. C., Lugo G. G., Villaseñor M. H., Partida R. L., Reyes O. A. 2015. Un método preciso para medir severidad de roya de la hoja (*Puccinia triticina* Eriksson) en trigo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 38:427-434. ISSN 0187-7380; <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61043041011>

SIAP. 2018. Cierre de la producción agrícola por cultivo. http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/ (consulta, febrero 2019).

Zervakis G., Philippoussis A., Ioannidou S., Diamantopoulou P. 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiologica* 46:231-234. ISSN: 1874-9356; <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02818539>.

ESPECIES DE PICUDOS (COLÉOPTERA: CURCULIONIDAE) DEL NORTE DE SINALOA, MÉXICO

Cynthia Guadalupe Lugo-García¹, Bardo H. Sánchez-Soto¹, Juan Fernando Sánchez-Portillo¹,
Álvaro Reyes-Olivas¹ y Víctor Alfonso Cuate-Mozo¹.

¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. 81110 Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa.

cynthialugo_26@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la superfamilia Curculionoidea está representada por 62, 000 especies y 5, 800 géneros, la integran las familias Nemonychidae, Anthribidae, Belidae, Attelabidae, Caridae, Brentidae y Curculionidae, siendo ésta última la más representativa con 51, 000 especies. En México, se han registrado seis familias, 603 géneros y 3, 594 especies (Oberprieler, Marvaldi y Anderson, 2007), de las cuales 11 especies están registradas en Sinaloa. Los picudos (Curculionidae) inciden en la economía del país, ya que muchas especies son plagas de importancia económica de cultivos agrícolas como algodón (*Gossypium hirsutum* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), chile (*Capsicum annuum* L.) y una gran variedad de frutos y granos.

En México, algunas plantas son dañadas por picudos o gorgojos (Anderson y O'Brien, 1996; Maya, Palacios-Cardiel y Jimenez, 2011), entre las que destacan los agaves (Asparagaceae: Agavoideae) que son atacados por (*Scyphophorus acupunctatus* Gyllenhal, *S. yuccae* Horn, *Rhinostomus frontalis* Leconte, *Cactophagus spinolae* Gyllenhal y *Peltophorus polymitus* Boheman), aguacate *Persea americana* Mill (*Conotrachelus aguacatae* Barber, *C. perseae* Barber, *Macrococopturus aguacatae* Kissinger y *M. constrictus* Champion), alfalfa *Medicago sativa* L. (*Maemactes pestis* O'Brien), arroz *Oryza sativa* L. (*Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel, *L. erratilis* Kuschel, *L. mexicanus* Kuschel y *Sphenophorus corona* Vaurie), nopal *Opuntia ficus-indica* Linnaeus Miller (*Cactophagus spinolae* Gyllenhal), col *Brassica oleracea* L. (*Ceutorhynchus assimilis* Paykull y *C. rapae* Gyllenhal), frijol *Phaseolus vulgaris* L. (*Apion godmani* Warner y *Chalcodermus aeneus* Boheman), granos almacenados, trigo *Triticum aestivum* L., arroz y maíz (*Sitophilus granarius* Linnaeus, *S. oryzae* Linnaeus, *S. zeamais* Motschulsky y *Caulophilus oryzae* Gyllenhal), guayaba *Psidium guajava* L. (*Conotrachelus dimidiatus* Champion), maíz *Zea mays* L. (*Sphenophorus callosus* Olivier), plátano *Musa paradisiaca* L. (*Cosmopolites sordidus* Germar, *Metamasius hemipterus* Linnaeus y *Polytus mellerborgii* Boheman), tamarindo *Tamarindus indica* L. (*Sitophilus linearis* Herbst), tomate *Solanum lycopersicum* L. y berenjena *Solanum melongena* L. (*Phyrdenus muriceus* Germar y *Trichobaris trinotata* Say) y zanahoria *Daucus carota* L. (*Listronotus oregonensis* Leconte).

Varias especies de picudos son benéficas porque atacan malezas y se utilizan como control biológico (Morrone, 2004), como el caso de *Neochetina eichhorniae* Warner que se introdujo a

Guadalajara, México, para el control de jacintos de agua (*Eichhornia crassipes* Mart. Solms), *Microlarinus la Reynii* Jacquelin du Val y *M. lypriformis* Wollaston en el suroeste de los Estados Unidos de América (EUA) contra abrojos (*Tribulus terrestris* L.) (Anderson y O'Brien, 1996). En México, se tiene el registro del picudo del chile *Anthonomus eugenii* (Coleóptera: Curculionidae), causando daños severos en el cultivo de chile cuando éste se encuentra en etapa de floración y fructificación (Jiménez, 2004); los daños por el picudo del algodón *Anthonomus grandis*, disminuyen el 50% de la cosecha ya que las larvas se alimentan de los frutos.

A pesar de la importancia que presenta esta familia su identificación es poco estudiada, entre las limitantes para su estudio se encuentran la falta de claves taxonómicas para separar la mayoría de los grupos, las principales colecciones de referencia están en el extranjero y, además las colectas han sido esporádicas y localizadas. En base a los antecedentes planteados el estado de Sinaloa cuenta con poca información sobre la diversidad de las especies en la región, su relación con los cultivos y arvenses hospederos, por lo tanto, este trabajo busca generar información sobre la diversidad de especies de Curculionidae presentes en los principales cultivos agrícolas y vegetación natural que nos permita implementar estrategias de manejo.

HIPÓTESIS

El identificar las especies de picudos dañinas a los cultivos nos permitirá implementar estrategias de manejo para un mejor control.

OBJETIVOS

Objetivo General

- 1) Determinar las especies de picudos asociados a cultivos hortícolas, vegetación natural, además de su fluctuación poblacional en el norte de Sinaloa.

Objetivos Particulares

- 1) Identificar taxonómicamente las especies de picudos en la región norte de Sinaloa.
- 2) Formar una colección de referencia de las especies de picudos asociados a cultivos agrícolas y vegetación natural para la región norte de Sinaloa.
- 3) Determinar la fluctuación poblacional de las especies de picudos de importancia agrícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizará durante el periodo de octubre de 2018 a mayo de 2019, en los cultivos agrícolas y vegetación natural establecidos en el Valle del Fuerte, Sinaloa (coordenadas geográficas 26° 24' 53" Norte, 108° 37' 8" Oeste) y el Valle del Carrizo, Ahome, Sinaloa (coordenadas geográficas 26° 16' 12" N, 109° 02' 12" O, entre los 25 – 40 m de altitud), donde existen grandes extensiones de tierras utilizadas para la agricultura. El clima de la región es cálido húmedo (tipo Am), la temperatura mínima promedio es de 10.5°C y se presenta durante el mes de enero; la temperatura máxima promedio es de 36°C y ocurre durante los meses de mayo a julio. La precipitación media del estado es de 790 mm anuales; las lluvias se presentan en el verano durante los meses de julio a septiembre (INEGI 2018). Entre los principales cultivos agrícolas destacan tomate rojo (*Solanum lycopersicum* L.), tomate verde o tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Horm.), chile (*Capsicum annuum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), berenjena (*Solanum melongena* L.), soya (*Glycine max* L.), maíz (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) y algodón (*Gossypium hirsutum* L.) (CODESIN 2017). Entre las plantas arvenses podemos encontrar chichiquelite o hierba mora (*Solanum nigrescens* M. Martens & Galeotti), toloache (*Datura stramonium* L.), tomatillo silvestre (*Solanum chilense* Dunal) y correhuela (*Convolvulus arvensis* L.).

Recolecta e identificación de insectos

Para determinar la presencia y abundancia de picudos se realizarán muestreos quincenales durante el periodo de estudio. En cada sitio y fecha de recolecta se revisarán las hojas, flores y frutos de los diferentes cultivos agrícolas, además de plantas arvenses posibles hospederos localizados dentro y en las orillas de cultivos, caminos, drenes y canales. La recolecta de insectos se realizará con una red entomológica de golpeo, una vez recolectados los insectos se depositarán en frascos eppendorf con alcohol al 70% para su conservación, una muestra de los adultos será montada en alfileres entomológicos para corroborar su identidad.

Para la identificación morfológica de los picudos se extraerá la genitalia del macho, misma que se procesará de acuerdo con la metodología propuesta por Kingsolver (1970) y Kingsolver y Whitehead (1974); asimismo, la interpretación de las estructuras de genitales se basará en la nomenclatura propuesta por Romero y Johnson (1999). La determinación de insectos se realizará con las claves dicotómicas propuestas por Anderson (2002, 2002a), Clark & Burke (2005), Hernández, Jones & Castillo (2013), O'Brien & Wibmer (1990), Prena (2005, 2009) y Rosas (2011). Los ejemplares estudiados se depositarán en las colecciones entomológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa (CEVF-UAS).

Recolecta e identificación de plantas

Para la identificación de plantas se realizarán recolectas botánicas por triplicado, cortando una rama de la planta con flor y fruto. Las muestras se prensarán y se trasladarán al herbario de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (FAVF), de la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS), donde se someterán a un proceso de secado y preservación para su determinación taxonómica. La identidad taxonómica de las muestras se determinará con el apoyo de claves taxonómicas de floras regionales y monografías disponibles (Shreve y Wiggins, 1964; McVaugh, 1987), con confirmación mediante cotejo de muestras con el Herbario Nacional de la Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU).

LITERATURA CITADA

Anderson, R. S. (2002). The Dryophthoridae of Costa Rica and Panama: Checklist with keys, new synonymy and descriptions of new species of *Cactophagus*, *Mesocordylus*, *Metamasius* and *Rhodobaenus* (Coleoptera; Curculionoidea). *Zootaxa*, 80(1), p. 1-94. ISSN: 1175-5334; DOI: 10.11646/zootaxa.80.1.1.

Anderson, R. S., & O'Brien, C. W. (1996). Curculionidae (Coleoptera). *Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, México, DF*, p. 329-350.

Clark, W. E., & Burke, H. R. (2005). Revision of the subgenus *Cnemocyllus* Dietz of the weevil genus *Anthonomus* Germar (Coleoptera: Curculionidae, Anthonomini). *Insecta Mundi*, 19(1-2), p. 1-54.

CODESIN. 2017. Reporte de Agricultura en Sinaloa al año 2017. <http://sinaloaennumeros.com/agricultura-en-sinaloa-2017/>. (Consulta, septiembre 2018).

Hernández, M. S., Jones, R. W., & Castillo, P. R. (2013). A key to the Mexican and Central America genera of Anthonomini (Curculionidae, Curculioninae). *ZooKeys*, (260), p 31-47. DOI:10.3897/zookeys.260.3989.

INEGI. 2018. Clima del Estado de Sinaloa. <https://www.inegi.org.mx/>. (Consulta, septiembre 2018).

Jiménez, S. H. (2004). Guía para el manejo integrado de plagas del cultivo de chile dulce. Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza CATIE. Proyecto Manejo Integrado de Plagas. *Turrialba, Costa Rica*.

Kingsolver J. M. 1970. A study of male genitalia in Bruchidae. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 72 (3): 370-386.

Kingsolver, J. M., & Whitehead, D. R. (1974). Biosystematics of Central American species of *Ctenocolum*, a new genus of seed beetles (Coleoptera: Bruchidae). *Biosistemática de las especies centroamericanas de Ctenocolum, un nuevo género de gorgojos de las semillas*

(Coleoptera: Bruchidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington.*, 87(27), p. 283-312.

Maya, Y., Palacios-Cardiel, C., & Jiménez, M. (2011). El cardón *Pachycereus pringlei*, nuevo hospedero para *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) en Baja California Sur, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 82(3), 1041-1045. ISSN 2007-8706.

McVaugh, R. (1987). *Flora Novo-Galiciana: a descriptive account of the vascular plants of western Mexico. Volume 5. Leguminosae.* University of Michigan Press. 791 pp. ISBN: 0472049682.

Morrone, J. J. (2004). Eirrhinidae (Coleoptera). *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: hacia una síntesis de su conocimiento*, 4, 701-704.

Oberprieler, R. G., Marvaldi, A. E., & Anderson, R. S. (2007). Weevils, weevils, weevils everywhere. *Zootaxa*, 1668(1), p. 491-520. ISSN: 1175-5334; DOI: 10.11646/zootaxa.1668.1.24.

Prena, J. (2009). Una revisión de las especies de *Geraeus Pascoe* y *Linogeraeus Casey* encontradas en los Estados Unidos continentales (Coleoptera: Curculionidae: Baridinae). *El boletín de coleópteros*, 123-172.

Romero, J., & Johnson, C. D. (1999). *Zabrotes sylvestris*, a new species from the United States and Mexico related to *Z. subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae: Amblycerinae). *The Coleopterists' Bulletin*, 87-98.

Rosas, E. M. V. 2011. Análisis filogenético del género *Pantomorus* Schoenherr (Coleoptera: Curculionidae: Entiminae). Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F. 74 pp.

O'Brien, C. W. & Wibmer, G. J. 1990. Taxonomic Revision of the New World Genera of the tribe Stenopelmini. Entomological-Biological Control, Florida A&M University. Tallahassee. 76 pp.

Shreve, F., and Wiggins, L. 1964. *Vegetation and Flora of the Sonoran Desert*, Vol. I y II. Stanford University Press, Stanford, CA. 1752 p.

FITOTOXICIDAD Y ABSORCIÓN DE OXITETRACICLINA EN SAUCE NEGRO *Salix nigra*.

Paloma Alvarez Tostado Rios 1, Dr. Otoniel Carranza Díaz¹, Dra. Carmen Osuna Martinez¹, Dr. Víctor Manuel Valenzuela Jiménez¹, Dra. Mercedes Marlenne Manzano Sarabia¹, Dr. Víctor Manuel Luna Pabellón².

Maestría en ciencias en recursos acuáticos. Facultad de ciencias Del mar.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de ciencias del mar.

Audolabel@hotmail.com ²

Universidad Nacional Autónoma de México

RESUMEN

En México, la oxitetraciclina (OTC) ha sido empleada como agroquímico en la producción animal. En particular, su uso como antibiótico es reconocido en el cultivo de organismos acuáticos. Dado que el estado de Sinaloa es uno de los mayores productores agropecuarios a nivel nacional, por ello, es uno de los mayores consumidores de agroquímicos, como lo es la OTC. Las aguas residuales generadas por el cultivo de organismos acuáticos pueden contener concentraciones de esta sustancia en su forma bioactiva, causando que los ecosistemas acuáticos estén expuestos de forma directa o indirecta a este tipo de sustancia. Por otro lado, el uso del género *Salix* ha sido documentado como organismo indicador de ecotoxicidad mediante pruebas de fitotoxicidad. Los sauces habitan en las zonas riparias en Sinaloa incluyendo diversa vegetación, *Salix nigra*. En este proyecto se estudiará la fitotoxicidad y absorción del agroquímico oxitetraciclina empleando *S. nigra*. Se utilizará el método de esquejes de Sauce desarrollado por Trapp *et al.* (2000). La prueba de fitotoxicidad consiste en determinar la transpiración relativa normalizada de las plantas para evaluar la toxicidad de este compuesto. Se medirá la OTC en muestras de agua empleando un espectrofotómetro HACH DR5000. Los experimentos se llevarán a cabo en hidroponía. Se realizarán pruebas con diferentes concentraciones de oxitetraciclina que serán expuestas a los esquejes de *S. nigra*. Se determinarán curvas dosis-respuesta y se determinará el valor CL₅₀. Adicionalmente, se estudiará su absorción en *S. nigra*. Finalmente, se sentarán las bases para complementar la técnica de esquejes de sauce con una técnica fotoacústica OPCT (*open photoacoustic cell technique*) que permite la determinación del sonido que emite la hoja al transpirar y que puede relacionarse con el estado de intoxicación de la planta. Para ello se realizará el diseño de un resonador empleando el programa COMSOL. Los resultados de toxicidad aguda empleando concentraciones de OTC de 1, 10, 50 y 100 mg/L de OTC indicaron toxicidad letal en *Salix nigra* a las 72 horas del experimento.

PALABRAS CLAVE: Ecotoxicidad, *Salix nigra*, oxitetraciclina, Fotoacústica, Ecosistemas acuáticos.

ABSTRACT

In Mexico, oxytetracycline (OTC) has been used as an agrochemical in animal production. Specifically, its use as an antibiotic is recognized in the culture of aquatic organisms. As Sinaloa state is one of the largest agricultural producers nationwide, is one of the largest consumers of agrochemicals, as it is OTC. The wastewater generated by the cultivation of aquatic organisms may contain concentrations of this substance in its bioactive form, exposing the aquatic

ecosystems directly or indirectly to this type of substance. On the other hand, willows (*Salix*) have been documented as indicator organisms of ecotoxicity by phytotoxicity tests. The willows inhabit the riparian zones in Sinaloa including different vegetation, *Salix nigra*. In this project the phytotoxicity and absorption of agrochemical oxytetracycline will be studied using *S. nigra*. It will be used Trapp *et al.* (2000) willow cutting developed method. The phytotoxicity test consists of determining the normalized relative transpiration of the plants to evaluate the toxicity of this compound. OTC will be measured with aid of a spectrophotometer HACH DR5000. The experiments will be carried out in hydroponics. Different concentrations of oxytetracycline will be tested and exposed to *S. nigra* cuttings. Dose-response curves and the LC₅₀ value will be determined. Additionally, its absorption in *S. nigra* will be studied. Finally, there will be a complementation of this technic by an OPCT photoacoustic technique (open photoacoustic cell technique) that allows the determination of the sound that emits leaf when perspiring and that can be related to the state of intoxication of the plant. To do so, it will be designed a resonator using the software COMSOL. The acute toxicity results using OTC concentrations of 1, 10, 50 and 100 mg/L of OTC indicated lethal toxicity in *Salix nigra* at 72 hours of the experiment.

KEYWORDS: Ecotoxicity, *Salix nigra*, oxytetracycline, photoacoustic, aquatic ecosystems.

INTRODUCCIÓN

Los antibióticos han existido y han beneficiado sustancialmente a la salud pública, siendo estos los agentes farmacológicos más exitosos utilizados en terapéutica humana. Los antibióticos se comenzaron a utilizar desde los años cincuenta en veterinaria y fines agrícolas (Kümmerer, y Meyer, 1997). La normalización de uso de los antibióticos ha ocasionado que estos pueden entrar al medio ambiente terrestre y acuático de diferentes maneras, por ejemplo, las formas de entrada de antibióticos a los cuerpos de agua ocurren cuando estos son suministrados de forma directa en el agua durante el proceso de producción acuícola (Santiago, Espinosa P and Bermúdez, 2009).

Durante el 2014, la producción acuícola a nivel mundial ascendió a 73,8 millones de toneladas, con un valor de 160,200 millones de USD (FAO, 2016). La industria acuícola presenta el reto de producir suficiente alimento accesible y de calidad sin embargo el uso de antibióticos para este fin es cada vez mayor y con ello la contaminación del medio ambiente. En la actualidad se utilizan más de 150 antibióticos de forma profilácticos, metafilácticos o terapéuticos entre los más destacados se encuentra la Oxitetraciclina (OTC) (Conaes, 2008). La vía de administración de OTC más frecuente es la oral, utilizando el alimento como vehículo el cual es aplicado de forma directa en el agua (Hirsch et al., 1999 Shao, 2001); (Markestad and Grave, 1997; Sørnum, 2006). En la acuicultura intensiva del 70 al 80 % de los antibióticos suministrados como alimento terminan en el medio ambiente (Cabello, 2006). Aunque los niveles que se registran son generalmente bajos (de ng L⁻¹ a µg L⁻¹ en aguas y de µg kg⁻¹ a mg kg⁻¹ en suelos y sedimentos). Los antibióticos se consideran contaminantes "pseudopersistentes" debido a la continua liberación al medio ambiente y su presencia permanente (Rodríguez, 2014).

La OTC es el tratamiento antibiótico de amplio espectro más utilizado en granjas acuícolas (Cosaes, 2008). Pertenece al grupo de las tetraciclinas, las cuales ejercen su acción antimicrobiana en muchas bacterias Gram (-) y (+). Las tetraciclinas son producidas por especies de *Streptomyces* y comercialmente es un polvo cristalino amarillo, sin olor y con sabor

amargo. Su punto de fusión es 180 °C, solubilidad en agua es de 100 g/L a 20 °C, y se disuelve en soluciones ácidas y básicas. Su exposición a la luz solar o a temperaturas superiores a 90 °C con humedad provoca su oscurecimiento. En camarón la OTC es utilizada en el tratamiento de infecciones como vibriosis, NHP y furunculosis (Korchi, 2018), a dosis de 3-5 kg por tonelada de comida de 7 a 14 días continuos de tratamiento. Actúa primeramente como bacteriostático y ejerce efecto antimicrobiano a través de la inhibición de la síntesis proteica. Para Sinaloa se tiene el registro del uso de OTC (Lyle- *et al.*,2006).

Los residuos que se generan a partir de estas actividades acuícolas como el uso de antibióticos puede tener efectos ecotoxicológicos que pueden afectar al equilibrio ecológico donde se utilizan tetraciclinas más específicamente la OTC, esta permanece en el agua y sedimentos teniendo una relación directa con el desarrollo de bacterias resistentes, así como daños al medio ambiente (Cosaes 2008). El término Ecotoxicología fue introducido por Truhaut en 1969 y procede de la palabra "ecología" y "toxicología" (Walker *et al.*, 1996). La ecotoxicología es la rama de toxicología que se ocupa del estudio de los efectos tóxicos, causados por contaminantes de origen natural o sintético, a los constituyentes de los ecosistemas, animal, vegetal y microbiano, en un contexto integral tomando en cuenta sustancias químicas en los ecosistemas. Teniendo afectaciones en peces, vida acuática, microorganismos, plantas. (Truhaut 1977). Uno reto en el campo de la ecotoxicología es el uso de grandes cantidades de organismos vivos que son utilizados y sacrificados para la evaluación toxicológica. Es por esto que se busca la implementación de técnicas menos agresivas, en menor número y disminuyendo el daño ocasionado a estos. La metodología de esquejes de Sauce propuesta por Trapp *et al.*, (2000) consiste en la utilización de esquejes extraídos de sauces. Entre las ventajas de esta metodología se encuentra que es poco invasiva, es fácil de reproducir, la realización se lleva a cabo en cultivo hidropónico en condiciones de laboratorio y con la elección de las soluciones y se puede seleccionar el nivel de concentración de los tóxicos (Trapp *et al.*, 2000). El presente trabajo tiene como objetivo, evaluar la toxicidad y absorción de OTC en *S. nigra* empleando la técnica de esquejes y sauce y compararla con una técnica fotoacústica. En la búsqueda de técnicas menos agresivas para la evaluación ecotoxicológica, se explorará en este estudio implementar una técnica fotoacústica (Vargas-Luna *et al.*, 2003) con el fin de lograr el diseño de un resonador que para el desarrollo de la técnica fotoacústica mediante la cual se pueda relacionar el efecto de OTC con el comportamiento dosis-respuesta de *S. nigra*.

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los cuerpos de agua naturales pueden transportar o acumular residuos derivados de la industria agropecuaria, entre los que destacan compuestos orgánicos como los antibióticos como la OTC. En muchos países, incluido México, el uso de antibióticos para la industria agropecuaria no tiene un buen manejo ni regulación. Se ha documentado la problemática de estos compuestos en el medio ambiente, así como los efectos que pueden ocasionar en diferentes organismos. Las aguas provenientes de la industria agropecuaria pocas veces tienen un tratamiento previo adecuado y son vertidas a cuerpos de aguas receptoras. Estas aguas no tratadas junto con las aguas residuales son probablemente la fuente principal de entrada de antibióticos al medio ambiente. Los antibióticos, pueden ser absorbidos, acumulados en tejidos

y metabolizados por los organismos no objetivo. Sin embargo, existen pocos estudios toxicológicos utilizando organismos silvestres tales como el *Salix nigra* oriundo del norte de América. Adicionalmente, se desconoce el efecto que la intoxicación por OTC pueda ocasionar a *S. nigra*. Es por esto que el presente estudio busca ampliar el conocimiento acerca de los efectos ecotoxicológicos de la OTC sobre plantas silvestres sauces (*S. nigra*), utilizando metodologías para reducir el tamaño de las muestras sacrificadas. Una de ellas es la metodología de Trapp *et al.* (2000), la cual utiliza solamente esquejes durante la prueba toxicológica.

3. HIPOTESIS

Salix nigra presenta toxicidad aguda y absorción a la oxitetraciclina.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la toxicidad y absorción de oxitetraciclina en *Salix nigra* empleando la técnica de sauce.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto dosis-respuesta de oxitetraciclina en *Salix nigra* empleando la técnica de Trapp *et al.*, (2000).

Diseñar un resonador que sienta las bases para el desarrollo de la técnica fotoacústica misma que pueda ser comparada con el método Trapp *et al.*, (2000) para la evaluación toxicológica.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizará el método de esquejes de Sauce desarrollado por Trapp *et al.*, (2000) para evaluar la toxicidad de OTC en *S. nigra* así como la técnica descrita por (Vargas-Luna *et al.*, 2003) para la implementación de la técnica fotoacústica. La prueba de fitotoxicidad consiste en evaluar la transpiración de las plantas en presencia de OTC y será comparada con el diseño de un resonador para la técnica fotoacústica. La técnica fotoacústica permite la determinación del flujo de gases transpirado por una hoja. Este flujo de gases será relacionado con la tasa de transpiración de la planta. La OTC se medirá en muestras de agua empleando un espectrofotómetro HACH DR5000. Los experimentos se llevarán a cabo en hidroponía. Para ello, se realizarán pruebas con diferentes concentraciones de OTC las cuales serán expuestas a los esquejes de *S. nigra*. Se determinarán curvas dosis-respuesta y se determinará el valor LC₅₀. Adicionalmente se estudiará la absorción de la OTC en *S. nigra*. A partir del análisis de la NRT se determinará el tratamiento más tóxico. La realización de estos bioensayos se realizará por triplicado y los datos generados serán estadísticamente analizados empleando promedios y desviación estándar. Adicionalmente se analizarán ajustes de los datos empleando una función logística calculando el coeficiente de Pearson para comparar entre tratamientos (Dornelas, *et al.*, 2009). Se realizará el ajuste de los datos empleando la función logística para determinar la curva dosis – respuesta.

6.- RESULTADOS

6.1 Primer experimento

Durante la transpiración absoluta que se determinó durante el primer experimento, se pudieron observar ciertas tendencias en las medias de las 24 horas y las 72 horas en la que a mayor tóxico menor fue la transpiración y por lo tanto el peso perdido fue menor, como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Transpiración absoluta (Media±SD, g/h)

Concentración OTC (mg/L)	24 h	48 h	72 h
0	4.01±1.795	2.658±1.069	2.24±0.899
1	0.26±0.112	0.10±0.048	0.053±0.034
10	0.28±0.066	0.083±0.029	0.02±0.022
50	0.25±0.087	0.09±0.042	0.053±0.038
100	0.27±0.013	0.05±0.021	0.028±0.029

Las concentraciones de OTC estudiadas fueron 100 mg/L (Tratamiento 1), 50 mg/L (Tratamiento 2), 10 mg/L (Tratamiento 3), 1 mg/L (Tratamiento 4) y agua tridestilada como control. Se determinó la transpiración absoluta y Transpiración Relativa Normalizada (NRT)

Dentro de las primeras 24 horas y hasta las 48 horas del experimento la transpiración relativa normalizada (NRT) fue similar independientemente de la concentración de OTC, Todos los esquejes expuestos a la OTC mostraron una disminución de la NRT con respecto a los controles. La temperatura ambiental durante el primer experimento osciló entre los 28 °C y 30 °C a la hora del pesaje.

La prueba de toxicidad se realizó por triplicado. Los tratamientos con 100, 50, 10 y 1 g/L mostraron transpiraciones absolutas promedio de 0.05 ± 0.02 g/h (NRT = 26.4 %), 0.09 ± 0.04 g/h (NRT = 55.3 %), 0.08 ± 0.03 g/h (NRT = 44.4 %) y 0.10 ± 0.05 g/L (NRT = 60.6 %) respectivamente a las 48 horas de iniciada la prueba, indicando mayor toxicidad en el tratamiento con 100 g/L que el tratamiento con 1 g/L. Al término de la prueba (72 horas) se observó toxicidad letal para *S. nigra* encontrándose valores de NRT por debajo de 38 % en todos los tratamientos, esto se ve de forma esquematizada en la figura 5.

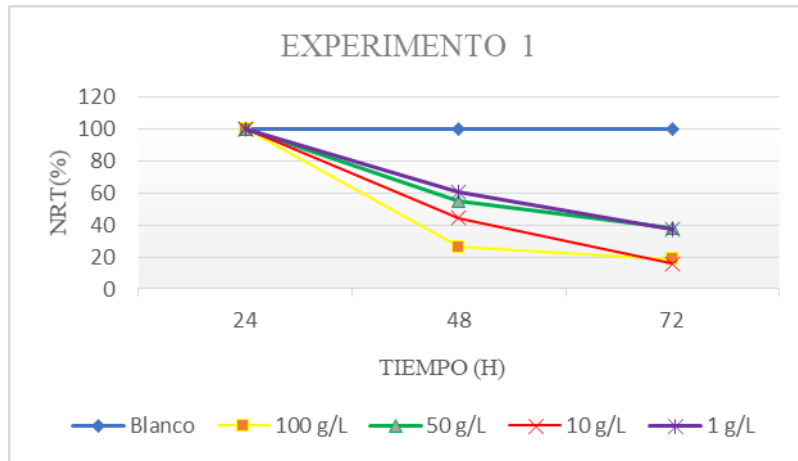


Figura 1: Comparativo de transpiración absoluta normalizada a diferentes concentraciones de OTC durante 72 horas.

6.2 Diseño del resonador fotoacústico

Para realizar el diseño del resonador fotoacústico se utilizaron dos programas, COMSOL Multiphysics 5.3a y el programa Autodesk Inventor Professional 2019.

6.2.1 COMSOL Multiphysics 5.3a

Se utilizó es programa para diseñar un modelo de resonador fotoacústico con los requerimientos necesarios para llevar a cabo el experimento, para esto fue necesario tener ciertas características acústicas, las cuales fueron dadas por la geometría del resonador, entre estas características buscadas fue que la frecuencia fundamental se encontrara por debajo de los 1500 Hz, para llegar a esto se tuvieron que llevar una serie de combinaciones de tamaños dentro del modelo del resonador para llegar a tales unidades de frecuencia deseada, los parámetros geométricos generales utilizados para realizar el resonador se muestran en la siguiente tabla:

Cuadro. 2 parámetros.

Nombre	Expresión	Descripción
L	Cms	Largo del cilindro
Rres	Cms	Radio del resonador
Rbuf	*Rres	Radio del Buffer

Para determinar el largo (L) del resonador se hicieron varias pruebas, los datos obtenidos fueron exportados al programa Excel para su análisis.

Cuadro. 3 resultado de diferentes modos fundamentales de L

	L	Modo fundamental
L=5 cm	5	1422.1
L=10 cm	10	1364.8
L=15 cm	15	1279.8

L=20 cm	20	1161.2
L=25 cm	25	1030.3
L=30 cm	30	911.14
L=35 cm	35	810.73
L=40 cm	40	728
L=45 cm	45	659.71

Para determinar el Radio del resonador (Rres) se realizaron varias pruebas, los datos obtenidos fueron exportados al programa Excel para su análisis.

Cuadro 4. resultado de diferentes modos fundamentales de Rres

	Rres	Modo fundamental
Rres=2	2	1513.3
Rres=3	3	1409.8
Rres=4	4	1290.5
Rres=5	5	1150
Res=6	6	1035
Rres=7	7	923.16
Rres=8	8	828.11
Rres=9	9	748.49
Rres=10	10	681.69

Debido al resultado de los modos fundamentales fue que se decidió que el Rres debía de ser de 3 cms.

Para determinar el Radio del buffer (Rbuf) se realizaron varias pruebas, los datos obtenidos fueron exportados al programa Excel para su análisis.

Cuadro 5. resultado de diferentes modos fundamentales de Rbuf.

	Rbuf	Modo fundamental
Rbuf=1.3	1.3	1622.3
Rbuf=1.7	1.7	1441.8
Rbuf=2.1	2.1	1285.4
Rbuf=2.5	2.5	1161.2
Rbuf=2.9	2.9	1061.4
Rbuf=3.3	3.3	978.42
Rbuf=3.7	3.7	907.85
Rbuf=4.1	4.1	846.41
Rbuf=4.5	4.5	792.23

Debido al resultado de los modos fundamentales fue que se decidió que el Rbuf debía de ser de 2.0*Rres cms.

Con la geometría final compuesta por las medidas mencionadas en el cuadro 6 se pudo realizar el diseño final en COMSOL 5.3.a con una frecuencia fundamental de 1496.3 Hz figura 13 se muestra el diseño final en 2D y 3D en las figuras 2 y 3 respectivamente.

Cuadro 6. mediciones finales

Nombre	Expresión	Descripción
L	20 Cms	Largo del cilindro
Rres	3 Cms	Radio del resonador
Rbuf	2.0*Rres	Radio del Buffer

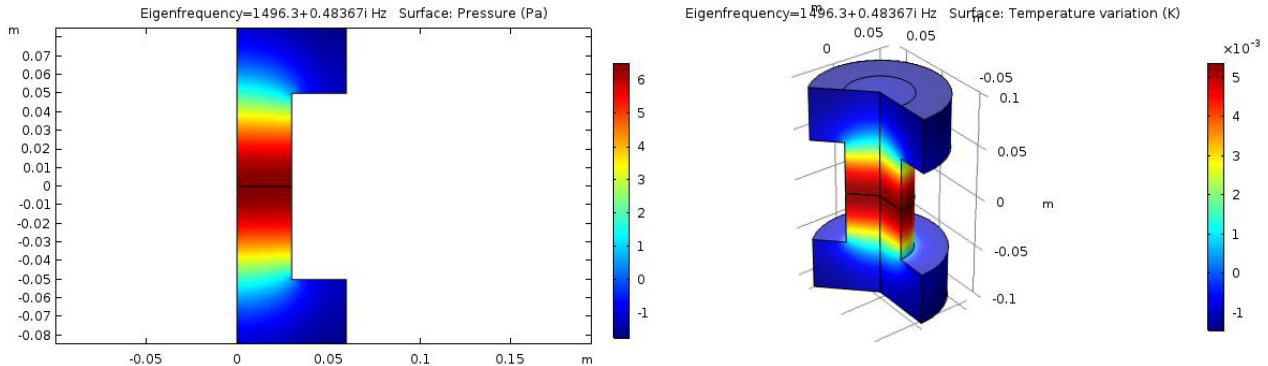


Figura 2 y 3. Corte vertical del resonador acústico, se observa la frecuencia fundamental en Hz y corte vertical en 3D del resonador acústico.

7.2.2 Autodesk Inventor Professional 2019

Después de obtener las medidas, la geometría correcta y el modo fundamental en COMSOL se prosiguió a rediseñar en Autodesk Inventor para poderlo adaptar a las necesidades del diseño para el experimento, como es el caso de agregar el orificio para posicionar el micrófono, así como establecer el material y el grosor, así como para su posterior maquinado realizado CAM. en la figura 4 se puede observar la imagen terminada en 3D del Resonador acústico



Figura 4. Vista 3D del resonador acústico.

El diseño 3D se pasó a 2D con la herramienta ISO.dwg, para que de esta forma fuera más sencillo apreciar el diseño del resonador fotoacústico. A continuación, se mostrarán los planos en las figuras 5,6 y7.

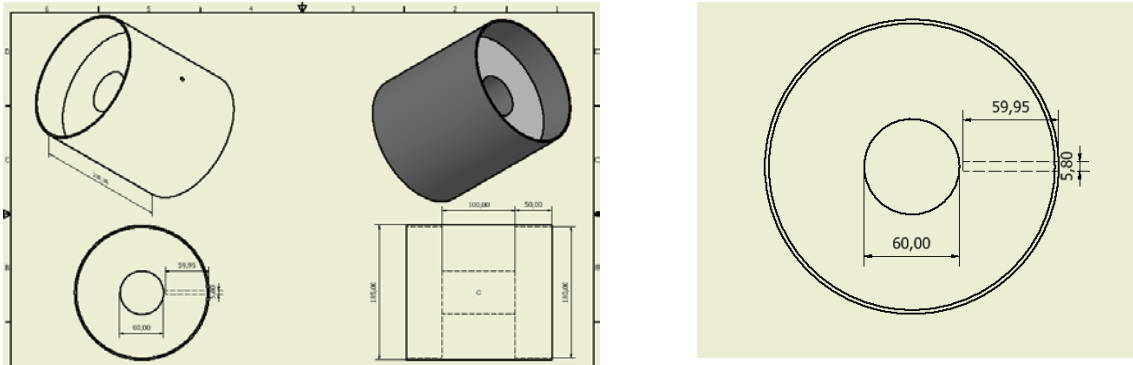


Figura 5 y 6. Vista 2 D tipo plano y 3D del resonador acústico y vista de un plano transversal, se pueden observar el resonador, así como el conducto del micrófono.

7.- DISCUSIÓN

Las fuentes de contaminantes de tipo farmacéutico, como las tetraciclinas (Boxall *et al.*, 2004) son los antibióticos más utilizados en la industria agrícola, acuícola y veterinaria. Estas sustancias han sido encontradas en aguas superficiales junto con otros contaminantes (Daughton y Ternes 1999; Ternes y Joss, 2006). Estos compuestos son una gran preocupación ya que se utilizan y se liberan en grandes cantidades, y sus propiedades físicoquímicas contribuyen a su amplia distribución en el medio ambiente. La presencia de pequeñas concentraciones o también denominadas concentraciones traza del orden de ng/L o µg/l pueden causar toxicidad, alteraciones endocrinas y desarrollo de resistencia a los patógenos, así como alteraciones a la biota no diana de estos antibióticos (Ternes y Joss, 2006). Las consecuencias son particularmente preocupantes en los organismos acuáticos, ya que están sometidos a mayor exposición (Halling-Sørensen *et al.*, 1998). Tal es el caso de los ecosistemas riparios.

Las plantas bajo estrés transpiran menos. Uno de esos factores de estrés es cuando éstas son expuestas a aguas contaminadas, en algunos casos, afectando significativamente el crecimiento y teniendo como consecuencia una disminución de la biomasa (Segura *et al.*, 2004; Dhir *et al.*, 2015). La fotosíntesis y la transpiración, así como el crecimiento y la transpiración, están relacionados. Muchas pruebas de toxicidad usan el crecimiento de raíces o la producción de biomasa para medir la toxicidad, pero la transpiración también es tomada en cuenta como un parámetro para la medición de los efectos tóxicos. Esto debido a que se puede medir fácilmente y de forma directa por pesaje de la planta, incluyendo, en este caso, el matraz (Trapp *et al.*, 2000). El efecto sobre la transpiración puede detectarse rápidamente y, al finalizar la prueba, puede prolongarse en caso de ser necesario ya que no es una medición destructiva (Trapp *et al.*, 2000). En la metodología de Trapp *et al.* (2000) el esqueje que se utilizó es el *Salix viminalis*. Westergaard y Trapp (2017) documentaron que mientras se siga el procedimiento de Trapp *et al.*, (2000) los resultados deben de poder ser replicados en el género de las salicáceas y así lo demuestran con 56 sustancias diferentes. Cabe mencionar que en este artículo no se utilizó ninguna tetraciclina.

8.- CONCLUSIONES

Se observó toxicidad letal para *Salix nigra* a las 72 horas para todos los tratamientos.

De acuerdo con la NRT, el tratamiento con 100 g/L mostró mayor toxicidad que el tratamiento con 1 g/L.

Al término de la prueba (72 horas) se encontraron valores de NRT por debajo de 38 % en todos los tratamientos.

La geometría final compuesta para una frecuencia fundamental de menos de 1500 Hz fue de 20 cms de largo del cilindro, 3 cms de radio del resonador y 2.0*Rres de radio del Buffer.

LITERATURA CITADA

Boxall, A.B.A., Fogg L.A., Blackwell P.A., Kay P., Pemberton E.J., Croxford A. (2004). Veterinary medicines in the environment. Reviews of environmental contamination and toxicology, 180: 1-91.

COSAES, El Uso Responsable de los Antibióticos en Las Buenas Prácticas de Producción Acuícola. (2008). Sonora México: Comité de sanidad acuícola del estado de Sonora, A.C., pp.1-16.

Daughton, C.G., Ternes, T.A., (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agent of subtle change?. *Environmental Health Perspectives*. 107(6): 907-938.

Dornelas, F., Machado, M. and von Sperling, M. (2009). Performance evaluation of planted and unplanted subsurface-flow constructed wetlands for the post-treatment of UASB reactor effluents. *Water Science & Technology*, 60(12), p.3025.

FAO., (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016 Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. Roma. 224 pp.

Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H., Jørgensen, S. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere*, 36(2), 357-393.

Korchi, G. (2018). *Farmacocinética y eficacia de la oxitetraciclina tras su administración intramuscular en bovino, Depleción muscular..* Doctor. Universidad Autónoma de Barcelona.

Kümmerer, K., Steger-Hartmann, T. and Meyer, M. (1997). Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Research*, 31(11), pp.2705-2710.

Lyle-Fritch, L., Romero-Beltrán, E. and Páez-Osuna, F. (2006). A survey on use of the chemical and biological products for shrimp farming in Sinaloa (NW Mexico). *Aquacultural Engineering*, 35(2), pp.135-146.

Cabello, F. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8(7), pp.1137-1144.

Pro González, F. (2016). *Valoración de efectos ecotoxicológicos de oxitetraciclina en organismos terrestres y acuáticos mediante el empleo de sistemas multi-especie en suelo (MS3)*. Doctorado. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD DE VETERINARIA Departamento de Toxicología y Farmacología.

- Rodríguez López, C. (2014). *Toxicidad de antibióticos utilizados en acuicultura sobre una microalga marina*. Doctorado. Universidad de Coruña.
- santiago, M., Espinosa P, A. and Bermúdez, M. (2009). Uso de antibióticos en la camaricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 40(3), pp.22-32.
- Segura, M.L. Granados, M.R., Moreno, J., Urrestarazu, M., (2004). Response of greenhouse melon and tomato crops to wastewater fertirrigation. XXVI International horticultural congress: protected cultivation 2002: in search of structures, systems and plant materials for sustainable greenhouse production. *Acta horticultrae*, 633.
- Ternes, A., Joss, A., (2006). Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: the challenge of micropollutants in urban water management. IWA publishing, London.x|
- Trapp, S., Zambrano, K., Kusk, K. and Karlson, U. (2000). A Phytotoxicity Test Using Transpiration of Willows. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(2), pp.154-160
- Vargas-Luna, M., Madueño, L., Gutiérrez-Juárez, G., Bernal-Alvarado, J., Sosa, M., González-Solís, J., Sánchez-Rocha, S., Olalde-Portugal, V., Alvarado-Gil, J. and Campos, P. (2003). Photorespiration and temperature dependence of oxygen evolution in tomato plants monitored by open photoacoustic cell technique. *Review of Scientific Instruments*, 74(1), pp.706-708.

CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA IN SITU DE POBLACIONES DE MAÍCES NATIVOS EN CONCORDIA, SINALOA, MÉXICO

Valeria Gómez-Pérez¹,

Pedro Sánchez-Peña¹, Teresa de Jesús Velázquez-Alcaraz¹, Saúl Parra-Terraza¹, Orlando Omer Linares-Holguín¹, Libia Iris Trejo-Téllez².

Maestría en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía. shey_jc_kayra@hotmail.com,

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Montecillos, Estado de México

RESUMEN

Los estudios de caracterización *in situ* permiten conocer cómo se encuentra los recursos genéticos en los lugares donde éstos tienen su asentamiento, lo que permitiría establecer estrategias de aprovechamiento, conservación y mejoramiento. En este contexto, se caracterizó la variación agromorfológica *in situ* de 15 poblaciones de maíces nativos (*Zea mays*) de Concordia, Sinaloa, con la metodología de CIMMYT/IBPGR (1991), evaluando diez variables de características vegetativas, espiga, mazorca y grano. Se aplicó un análisis de varianza entre poblaciones para cada una de las variables evaluadas y se encontró diferencias significativas entre poblaciones, lo que se consideró como un indicador de diversidad en los maíces nativos. La población Jala reportó los promedios mayores para las variables número de hojas bajo de la mazorca, altura de planta y mazorca, longitud de mazorca (10.46 hojas, 377.62 cm, 199.96 cm y 21.7 cm, respectivamente); en hojas arriba de la mazorca, Chilero con 6.93 hojas. Asimismo las longitudes del pedúnculo de espiga y la espiga central fueron mayores en la población Colita (27.96 y 30.36 cm, respectivamente); en cambio la mayor longitud de parte ramificada se tuvo en Serrano Amarillo (16.57 cm). Los mayores número de espiguillas y ancho de grano se registraron en la población Pozolero (20.53 espiguillas y 142.8 mm). De las 15 poblaciones, Jala fue la que presentó los promedios más altos en seis de diez variables evaluadas y Huesito las medias más bajas en seis de diez variables. Se confirmó la existencia de riqueza genética en los maíces nativos y la variación encontrada está en concordancia con los resultados reportados en estudios previos.

Palabras claves: *Maíces nativos, caracterización in situ, recursos genéticos, diversidad*

ABSTRACT

In situ characterization studies allow to know how the genetic resources are found in the places where they have their origin, which can be converted into strategies of exploitation, conservation and improvement. In this context, it was characterized, the agro-morphological variation in situ of 15 local landrace populations (*Zea mays* L.) from Concordia, Sinaloa, Mexico, by using CIMMYT/IBPGR methodology (1991), evaluating ten characteristics variables vegetative, spike, ear and grain width variables. An analysis of variance was applied among the populations for each of the evaluated variables and significant differences were found among population, which was considered as an indicator of the diversity in native landrace populations. The Jala

population reported the highest averages for the variables number of leaves under the ear, height of plant, height and length of ear (10.46 leaves, 377.62 cm, 199.96 cm and 21.7 cm, respectively); number of leaves above the ear, Chilero with 6.93 leaves. Also the lengths of the spike peduncle and the central spike were larger in the Colita population (27.96 and 30.36 cm respectively); however, however the greater length of branched part was en Serrano (16.57 cm). The highest number of spikelets and grain width were recorded en he Pozolero population (20.53 spikelets and 142.8 mm). Of all populations evaluates 15, Jala was the one that presented the highest averages in six of the ten variables evaluated and Huesito the lowest averages in six of the ten variables. The existence of genetics in native landrace population was confirmed and the variation found is in agreement with the results reported in previous studies.

Keywords: *Native maize, characterization in situ, diversity, genetic resources*

INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de maíz es de gran importancia, no sólo por ser centro de origen; sino también, porque constituye parte de la dieta alimenticia de la población (Kato *et al.*, 2009). Desde su domesticación a la fecha, la variación generada en los maíces mexicanos es producto de las condiciones de los numerosos nichos ecológicos en los que se ha venido cultivando en el país y de las selecciones realizadas por los campesinos en función de sus necesidades (Muñoz *et al.*, 2003). En el estado de Sinaloa a pesar de los altos rendimientos en el cultivo de maíz, poco se conoce de los maíces nativos que se encuentran en las áreas de temporal y que albergan parte de la riqueza de la variación presente en el territorio nacional (Sánchez *et al.*, 2008), Palacios *et al.* (2008), encontraron variación agro-morfológica en 152 colectas de maíces nativos colectados en 15 de los 18 municipios de Sinaloa; sin embargo, también observaron que algunas razas reportadas para el estado están prácticamente desaparecidas. Por su parte Morales (2012), en un estudio de caracterización fenotípica de 21 poblaciones de maíces nativos y/o criollos en condiciones de temporal para Sinaloa, confirmó variación fenotípica en los maíces y la presencia de las dos razas reportadas como desaparecidas por Palacios *et al.* (2008). La conservación *in situ* de las plantas permite la continuidad de los procesos de adaptación genética en las poblaciones locales cultivadas por los productores (Dzib *et al.*, 2016). Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre maíces nativos, se realizan fuera del ambiente donde éstos se desarrollan (*ex situ*) y en ellos se estudian la variación para múltiples características (Hortelano *et al.*, 2008). De acuerdo con Serratos (2012), esto podría no reflejar el comportamiento de las poblaciones en los lugares donde tienen su asentamiento (*in situ*). Por lo que, investigaciones que tengan como propósito conocer cuál es la variación que tienen los maíces nativos en los lugares donde éstos se cultivan, no sólo reflejaría la situación real de este recurso, sino que también, contribuirían a conocer la potencialidad de las poblaciones para futuros trabajos de mejoramiento genético; así como, para definir estrategias de conservación de la diversidad de maíz en México (Serratos, 2012); por ende, la caracterización, conservación, mejoramiento y producción de este recurso, debe ser considerado como un aspecto de seguridad nacional (Serratos, 2009). El objetivo de este trabajo fue caracterizar la variación agro-morfológica *in situ* de las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mayoría de los estudios sobre maíces nativos, se realizan fuera del ambiente donde éstos se desarrollan (*ex situ*) y en ellos se estudian la variación para múltiples características, esto podría no reflejar el comportamiento de las poblaciones en los lugares donde tienen su asentamiento (*in situ*) y por ende no refleja la situación real de este recurso genético.

HIPÓTESIS

Existe variación agromorfológica *in situ* en las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la variación agromorfológica *in situ* de las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Colectar poblaciones de maíces nativos en el municipio de Concordia, Sinaloa.
2. Evaluar el comportamiento de poblaciones de maíces en el municipio de Concordia, Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 15 poblaciones de maíces nativos: Blando de Sonora (BLA), Breve San Juan (BSJ), Burrito (BUR), Cascaringa (CAS), Chapalote (CHA), Chilero (CHI), Chino (CHN), Colita (COL), Enano (ENA), Huesito (HUE), Jala (JAL), Pepitilla (PEP), Pozolero (POS), Serrano Amarillo (SEA) y Zorrita (ZOR), colectadas en la zona serrana de la comunidad El Purgatorio del municipio de Concordia, localizado al sur del estado de Sinaloa, a 23° 17' 18" N, 106° 4' 3" W, y una altitud promedio de 478 m; su clima predominante es cálido subhúmedo con lluvias principalmente en verano; presenta una temperatura media anual de 24°C (INEGI, 2016). En la parcela donde estaba ubicada cada población, se seleccionaron aleatoriamente 30 plantas con competencia completa. La caracterización de las 15 poblaciones se realizó en condiciones de temporal en un estudio observacional durante todo el ciclo del cultivo (junio del 2017 a diciembre 2017). Diez variables respuestas fueron evaluadas; éstas fueron divididas en cuatro categorías: a) variables vegetativas, en la que se incluyen, altura de planta y de mazorca, número de hojas arriba y bajo de la mazorca; b) variables de espiga, como longitudes de espiga, de pedúnculo de la espiga, de espiga central, de la parte ramificada de la espiga y el número de espiguillas; c) variables de mazorca, en las que se encuentran, longitudes de la mazorca y del pedúnculo de la mazorca, número de hileras, pesos y diámetros de mazorca y olote; d) variables de grano, como grosor, ancho y longitud de 10 granos, volumen y peso de 100 granos. Todas estas variables se tomaron de acuerdo con la metodología propuesta por CIMMYT/IBPGR (1991). La existencia o no de diferencias entre poblaciones en cada una de las

variables estudiadas, se realizó mediante el modelo lineal general, donde se incluyó el efecto de las poblaciones y las medias de cada variable fueron comparadas con el método de Tukey con $\alpha \leq 0.05$ usando el programa SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre las 15 poblaciones para la totalidad de variables estudiadas; sin embargo, solamente se presentan resultados para diez variables estudiada (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios para poblaciones y error, así como la significancia estadística ($P \leq 0.05$) para población en las diez variables evaluadas de los caracteres vegetativos, espiga, mazorca y grano en el estudio de caracterización agromorfológica en maíces nativos de Concordia.

Variable respuesta	Cuadrados medios	
	Población	Error
Caracteres vegetativos		
Altura de mazorca (cm)	16744**	534
Altura de la planta (cm)	29999**	918
Número de hojas arriba de la mazorca	6.55**	0.50
Número de hojas bajo la mazorca	6.558**	0.509
Caracteres de espiga		
* = $P \leq 0.05$, ** = $P \leq 0.01$		
Longitud del pedúnculo de la espiga (cm)	796.5**	24.6
Longitud de la parte ramificada de la espiga (cm)	90.1**	10.6
Longitud de espiga (cm)	194.1**	19.4
Número de espiguillas	168.3**	18.5
Caracteres de mazorca		
Longitud de mazorca	205.561**	6.299
Caracteres de grano		
Ancho de grano	7002.11**	103.24

Al analizar el comportamiento de las poblaciones en cada variable, se encontró que para la categoría vegetativa, respecto a altura de mazorca (Figura 1A), la altura de planta (Figura 1B), el número de hojas bajo la mazorca (Figura 1G) y longitud de mazorca (Figura 1E), la población Jala presentó los mayores promedios (199.96 cm, 377.62 cm, 10.46 hojas y 21.7 cm, respectivamente); mientras que, en la variable número de hojas arriba de la mazorca (Figura 1F), la población Chilero con 6.93 hojas fue la del promedio más alto. Al respecto, en las variables longitud del pedúnculo de la espiga (Figura 1C) y longitud de espiga central (Figura 1I), la población Colita presentó los mayores promedios (30.36 cm y 27.96 cm, respectivamente), y en la variable longitud de la parte ramificada de la espiga (Figura 1D), la población Serrano amarillo (16.57 cm), mientras que en número de espiguillas (Figura 1H) y ancho de grano (Figura 1J), la población Pozolero (20.53 espiguillas y 142.8 mm, respectivamente) fue la de mayor promedio (Figura 1). Las diferencias entre las variables vegetativas, espiga, mazorca y grano evaluadas en las 15 poblaciones de maíces nativos de la comunidad El Purgatorio, Concordia, mostraron que en ellas se encuentra un acervo de genes que debe de ser conservado. Estos resultados están en concordancia con Hortelano *et al.* (2008), al encontrar diferencias significativas en el estudio de diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. Por otro lado, los resultados obtenidos, coinciden con los mostrados por Ángeles *et al.* (2010), al obtener diferencias significativas en la caracterización de maíces nativos en Molcaxac, Puebla. Asimismo, los resultados están en correspondencia con los realizados por Contreras *et al.* (2016), que caracterizaron morfológicamente a 81 materiales nativos de la Sierra Nororiental de Puebla y encontraron una alta variación entre las poblaciones estudiadas, respecto a los caracteres aquí mostrados.

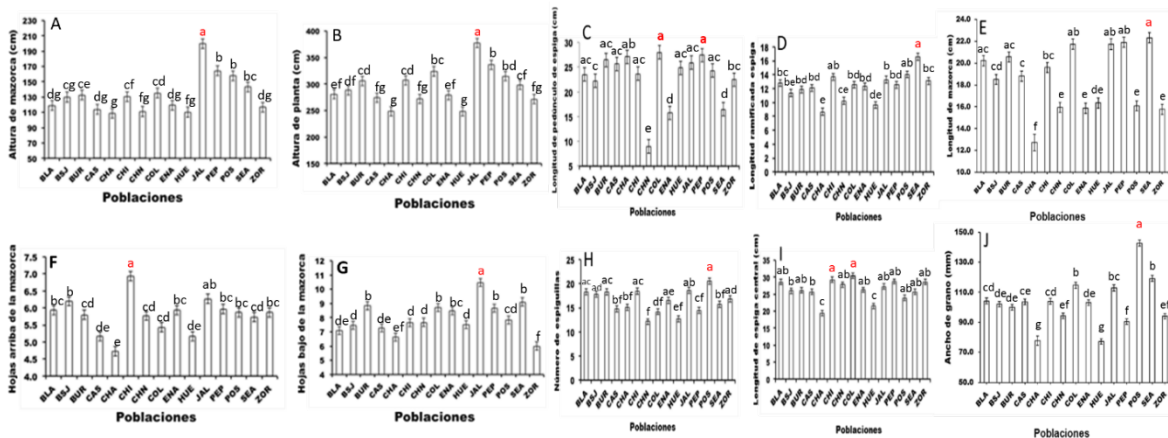


Figura 1. Comparación de medias de altura de mazorca (A), altura de planta (B), longitud del pedúnculo de la espiga (C), longitud ramificada de la espiga (D), longitud de mazorca (E), número de hojas arriba de la mazorca (F), número de hojas bajo la mazorca (G), número de espiguillas (H), longitud de la espiga central (I) y ancho de grano (J). Medias

+ EE con letras distintas en cada medición indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) entre poblaciones.

CONCLUSIONES

Tomando en consideración las poblaciones, las variables respuestas evaluadas y las limitantes en las que se realizó el estudio, se puede destacar que la caracterización agro-morfológica *in situ* confirma la existencia de variabilidad para dichas poblaciones respecto a las variables reportadas. La población más sobresaliente fue Jala, ya que ésta, presentó los mayores promedios en 6 de las 10 variables evaluadas y la menos sobresaliente fue Huesito, ya que presentó los promedios más bajos en 6 de las 10 variables evaluadas.

LITERATURA CITADA

Ángeles-Gaspar E., Ortiz-Torres E., López P., López-Romero G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. *Rev. Fitotec. Mex.* 33 (4): 287-296

CIMMYT/IBPGR. 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources. Rome 3-28. http://archive-ecpgr.cgiar.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/104_Descriptors_for_maize.Descriptores_para_maiz.Descripteurs_pour_le_mais-cache=1415188810

Contreras-Molinas O., Gil-Muñoz A., López A., Reyes-López D, Guerrero-Rodriguez J. 2016 Caracterización Morfológica de Maíces Nativos de la Sierra Noriental de Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 17: 3633-3647

Dzib-Aguilar L. A., Ortega-Paczka R., Segura-Correa J.C. 2016. Conservación *in situ* y Mejoramiento Participativo de maíces criollos en la Península de Yucatán. *Tropica and Subtropical Agroecosystems* 19: 51-59

Hortelano S. R., Muños G., Santacruz V. A., Miranda C.S., Córdova T. L. 2008. Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agric. Téc. Méx.* 34 (2): 189-200

INEGI. 2016. Síntesis geográfica, nomenclátor y anexo cartográfico del estado de Sinaloa. Recuperado de <http://www.inegi.org.mx> (Consulta, febrero 2018).

Kato Y.T. A., Mapes S.C., Mera O. L. M., Serratos H. J. A., Bye B. R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México

Morales F. M. L. 2012. Caracterización fenotípica de 21 poblaciones de maíces nativos y/o criollos, en condiciones de temporal de Sinaloa Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa: 87-99

Muñoz A., Cueva, J., Santacruz V. A., Olvera I., Taboada E. 2001. Diversidad del maíz en los nichos ecológicos y culturales de México. Universidad Autónoma Chapingo, Programa Nal. Etnobotánica Agroecosistemas (5): 36.

Ortega P.R. 2003. La diversidad de maíz en México. En: Gustavo E. y Catherine M. (coordinadores). Sin maíz no hay país, CONACULTA, Dirección General de Culturas Populares, Museo de Culturas Populares, México <https://es.scribd.com/document/116425663/Sin-maiz-no-hay-pais-Gustavo-Esteva-y-Catherine-Marielle-Coordinadores>

Palacios V. O., Ortega C. A., Guerrero H. M. de J., Hernández C. J. de M., Peinado F. L. A. 2008. Proyecto FZ002. Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Componente 1: Diversidad y distribución actual de los maíces nativos
https://www.Biodiversidad.gob.mx/genes/proyecto/Anexo8_ResultadosProyectos/FZ002/Informe%20final/Maiz/Sinaloa/Informe%20Final_Sinaloa_FZ002

Sánchez-Peña P., López-Valenzuela J.A., Lugo-Melchor R., Leyva O.J. F., Hernández-Verdugo S., Cauich-Pech S. O., González-Galindo R., Villarreal-Romero M., Parra-Terraza S., Corrales-Madrid J. L., Sánchez-Peña J., Quintero-Arce J. R., Garzón-Tiznado J. A., Palacios-Velarde O., Armenta-Soto J. L. 2008. Variación fenotípica de maíces nativos del estado de Sinaloa, México. Trabajo presentado en el XI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, Mexicali, Baja California

SAS Institute. 2002. SAS/STAT User's Guide, Software version 9.0. Cary, N.C., USA

Serratos H. J. A. 2009. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México: Greenpeace. <http://www.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/report/2009/3/el-origen-y-la-diversidad>

Serratos H. J. A. 2012. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México: Greenpeace, 3031. <http://m.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/report/2012/9/GPORIGENMAIZ%20final%20>
0

VALORACIÓN DEL PROCESO DE SACRIFICIO DE BOVINOS MEDIANTE INDICADORES DE BIENESTAR ANIMAL EN CULIACÁN, SINALOA

Jaime Noé Sánchez Pérez¹, Horacio Dávila Ramos¹, Juan Carlos Robles Estrada¹, Francisco Gerardo Ríos Rincón¹, Jesús José Portillo Loera¹
Doctorado en Ciencias Agropecuarias

¹Universidad Autónoma de Sinaloa

insanchez25@gmail.com

RESUMEN

Se realizó un estudio observacional con el objetivo de valorar prácticas de manejo e indicadores de bienestar animal, eficacia del aturdimiento, caracterizar contusiones en canales y determinar algunos factores de riesgo asociados. 1168 bovinos fueron observados en las instalaciones de una planta de sacrificio de Tipo Inspección Federal en el noroeste de México. A lo largo de la cadena de matanza se registraron variables de manejo y de comportamiento, además, indicadores de retorno a la sensibilidad y otros indicadores de bienestar animal de interés, también, se caracterizaron las contusiones y se registró la ubicación anatómica en la canal. Un 10 % de los bovinos recibieron descargas eléctricas con la picana, 24.2 % fueron golpeados por los operarios y 2.96 % vocalizaron. Se observó arqueo de columna (44.4 %); este fue mayor en bovinos \leq 30 meses ($P= 0.036$). El 62.2 % de los bovinos mostraron sensibilidad al degüello; los machos superaron a las hembras en ambos indicadores ($P= 0.002$ y $P= 0.027$ respectivamente). El aturdimiento efectivo redujo el porcentaje de arqueo de columna en 9.4 %. La prevalencia de contusiones fue de 88.8 %. Las hembras tuvieron 1.6 veces más riesgo de presentar contusiones y bovinos con cuernos grandes fueron 1.5 veces más susceptibles. Las características de las contusiones de mayor presentación fueron el color rojo brillante (93.7 %), forma moteada (71.5 %), pequeñas (82.9 %) y de grado 1 (95.7 %). El área anatómica más afectada fue la dorso lumbar con el 58.3 % de las canales.

Palabras clave: contusiones, bovinos, sacrificio

ABSTRACT

An observational study was conducted with the objective of assessing management practices and indicators of animal welfare, effectiveness of stunning, characterizing contusions in carcasses and determining some associated risk factors. 1168 bovines were observed in the facilities of a Federal Inspection Type slaughter plant in northwestern Mexico. Throughout the chain of slaughter management and behavioral variables were recorded, in addition, indicators of return to sensitivity and other indicators of animal welfare of interest, also, contusions were characterized and the anatomical location in the carcass was recorded. 10% of the cattle received electric shocks with the cattle prod, 24.2% were beaten by the operators and 2.96% vocalized. Column arching was observed (44.4%); this was higher in cattle \leq 30 months ($P = 0.036$). 62.2% of the cattle showed sensitivity to the slaughter; the males outperformed the females in both indicators ($P = 0.002$ and $P = 0.027$ respectively). Effective stunning reduced the percentage of column tonnage by 9.4%. The prevalence of bruises was 88.8%. The females had a 1.6 times greater risk of presenting bruises and cattle with large horns were 1.5 times more

susceptible. The characteristics of the contusions with the greatest presentation were bright red (93.7%), mottled (71.5%), small (82.9%) and grade 1 (95.7%). The most affected anatomical area was the lumbar back with 58.3% of the carcasses.

Keywords: bruises, cattle, abattoir

INTRODUCCIÓN

La matanza de los bovinos es la última etapa crucial en lo referente a bienestar animal. Y dado el creciente interés de las personas por el bienestar de los animales y particularmente los que se destinan a consumo, las plantas de sacrificio han aplicado medidas que disminuyan el riesgo de estrés en los animales (Cobo y Romero, 2012). El manejo antes del sacrificio es crítico ya que el animal de no ser correctamente insensibilizado podría sufrir dolor al momento del sacrificio. Los trabajos dirigidos a la valoración de indicadores de bienestar animal en la planta de sacrificio se destinan a dos tipos en particular: de comportamiento de los animales y de manejo por parte del personal. En la cadena de manejo pueden presentarse condiciones desfavorables para los animales debido a fallas estructurales de las plantas o falta de capacitación del personal. Por lo tanto, es importante detectar factores que representen riesgos o problemas de bienestar animal para los bovinos (Godoy *et al.*, 1986).

En México, el método para insensibilizar a los bovinos es obligatorio en los rastros de Tipo Inspección Federal y se realiza mediante la pistola de perno penetrante. El objetivo de la insensibilización es lograr una pérdida profunda de la conciencia; lo anterior haría más fácil el manejo e incluso disminuir efectos negativos en la carne. Desde el enfoque del bienestar animal esto último se vuelve de suma importancia, ya que iniciar un proceso de desangrado a un bovino sin antes haber sido correctamente insensibilizado implica un sufrimiento innecesario (Alende *et al.*, 2014).

Otros factores como las contusiones que indican falta de bienestar animal pueden detectarse *post mortem* al inspeccionar las canales de manera visual, en estas es posible encontrar indicios de golpes sufridos en alguna de las etapas de manejo previas al sacrificio (Strappini *et al.*, 2009). Una contusión es causada por un daño mecánico en el tejido y se observa como un área de la canal con ruptura de vasos sanguíneos que causa dolor e hinchazón en el área, además una contusión tiene connotaciones sanitarias, y de aceptabilidad del consumidor y si el daño es considerable puede ser causa de decomiso del producto (Nanni *et al.*, 2006). El registro y caracterización de las contusiones brinda información aproximada de cómo y cuando se provocó el daño.

Dada la importancia de obtener información de cómo se realiza el manejo *ante mortem* de los bovinos, de la efectividad de la insensibilización y de la presencia de contusiones en las canales el objetivo de este estudio fue valorar las prácticas de manejo e indicadores de bienestar animal, eficacia del aturdimiento, caracterizar contusiones en las canales y determinar algunos factores de riesgo asociados a su presentación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al entrar en el cajón de insensibilización los bovinos son insensibilizados de manera mecánica: se utiliza una pistola con sistema neumático la cual tiene la finalidad de introducir un perno en el cráneo de los animales, la velocidad y profundidad a la que penetra el perno es tal que se causa la destrucción del cerebro. Es importante que esta acción se lleve a cabo de manera correcta y efectiva para causar el menor sufrimiento a los animales. Sin embargo, hay factores que predisponen a una incorrecta insensibilización tales como, por mencionar algunas, equipos mal calibrados y faltos de mantenimiento u operarios mal capacitados o cansados. En todo el manejo de los bovinos el factor humano juega un papel fundamental sobre el bienestar animal, ya que son las personas las que interactúan de manera activa con los animales en los procesos de producción, y cuando no se llevan a cabo las prácticas adecuadas de manejo se incurre en problemas de estrés animal y como consecuencia carne de mala calidad (Gallo y Tadich, 2008).

Ante la presión de los consumidores preocupados por el trato que se da a los animales durante su crianza y sacrificio fue necesario crear normativas con el propósito de regular dichas actividades. La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) propone las pautas y normativas internacionales relacionadas con los aspectos de bienestar animal. En México se establecieron Normas Oficiales Mexicanas (NOM) relacionadas con el tema: NOM-033-SAG/ZOO-2014, métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. NOM-008-ZOO-1994, especificaciones zoonosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos. NOM-051-ZOO-1995, trato humanitario en la movilización de animales. Su implementación debería ser obligatoria y las auditorías para su evaluación constantes para su correcta implementación. Sin embargo, al evaluar el bienestar animal por medio de variables y parámetros, los resultados indican que no se realizan prácticas adecuadas aun cuando las NOM son de observancia obligatoria.

Como consecuencia del manejo inadecuado de los bovinos con frecuencia se presentan canales con daños de severidad variable. La presencia de contusiones en la canal bovina genera pérdidas económicas por concepto de recortes a las canales. Además, la presencia de corte oscuro disminuye la calidad y el tiempo de vida de la carne. Esto implica una reducción en la cantidad y valor de los kg producidos de carne.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del lugar de estudio

El estudio observacional descriptivo se realizó en un establecimiento Tipo Inspección Federal, ubicado en el noroeste de México (24° 38.4' 38.4" N; 107° 26' 40.0" O; 14 msnm). El clima de la región es semiseco, con temperatura media anual de 25.9 °C, las temperaturas medias máximas son mayores a 36 °C en los meses de mayo a julio y mínimas de 10.5°C en enero. Las lluvias se presentan en los meses de julio a septiembre y la precipitación media anual de 790 mm (INEGI, 2018). El estudio se llevó a cabo durante el periodo de diciembre de 2017 a marzo de 2018; en este lapso se realizaron 10 visitas a la línea de producción donde se valoraron los indicadores de bienestar animal y se caracterizaron las contusiones en 1168

canales bovinas. La capacidad de matanza de la planta es de aproximadamente 40 bovinos por hora que resultan en 350 a 400 bovinos por jornada laboral.

Descripción del proceso y obtención de las variables

El proceso de matanza inicia cuando los bovinos ingresan a la antecámara de aturdimiento por una primer puerta de tipo guillotina donde permanecen un breve lapso de tiempo en grupos de cuatro a cinco bovinos alineados uno detrás de otro; posteriormente, pasan por una segunda puerta tipo guillotina para acceder al cajón de aturdimiento, este último cuenta con una puerta de salida abatible de apertura horizontal. Una persona se encarga de dirigir a los bovinos de tal manera que no detengan su avance; el operario ejecutor del equipo de aturdimiento también participa en el rol de arreador. La pistola con que se efectúa el aturdimiento es de funcionamiento neumático (USSS-1 JARVIS® Jarvis Products Corporation; Middletown, CT, USA). Después del aturdimiento los bovinos se deslizan al accionarse la puerta abatible y se elevan por medio de una cadena con gancho metálico colocado en el miembro posterior izquierdo; al colocarse en el riel de desangrado, son desangrados, desollados y finalmente, en una secuencia de estaciones de trabajo, las canales obtenidas pasan a cuartos refrigerados.

En la antecámara de aturdimiento se registró la presencia de cuernos, con base al tamaño se asignaron a una de cuatro categorías: desprovisto de cuernos, pequeño, mediano y grande [para el análisis estadístico se definieron dos categorías de manera arbitraria: pequeños (≤ 10 cm) y grandes (> 10 cm)]. El sexo, en machos y hembras. Las razas se clasificaron como: cebuinos, europeos y cruza. Además, se registraron las siguientes variables: uso de la picana eléctrica, vocalizaciones, torcedura de cola, pérdida del equilibrio y golpes proporcionados por algún tipo de objeto.

Al ingresar al cajón de aturdimiento se registró lo siguiente: golpes con la puerta tipo guillotina en alguna parte del dorso, intentos de retroceso dentro del cajón, cabeza agachada, intentos de escapar del cajón, liberación de aire comprimido de la pistola para atraer la atención del animal (emite un sonido), y bovino prensado por la puerta abatible posterior al aturdimiento.

Posteriormente, se valoró la efectividad del aturdimiento inmediatamente y fuera del cajón mediante signos de retorno a la sensibilidad que corresponden al reflejo ocular, convulsión tónica y convulsión clónica, respiración rítmica, arqueo de columna y sensibilidad al degüello. Además se registró el tiempo transcurrido entre el aturdimiento al degüello en segundos y se clasificó en categorías (de 0-30, 31-60 y > 60 s).

También, en el área de inspección de cabezas se registró el número de orificios por cráneo hechos con el perno penetrante. La precisión del disparo se midió en centímetros y se clasificó como (0-2, 2.1-5 y 5.1-8 cm) y su orientación cardinal respecto al punto ideal que se registraron con una plantilla transparente (Noreste, Sureste, Suroeste y Noroeste). La profundidad del disparo se obtuvo con una barra de silicón graduada en centímetros, clasificado en (0-3, 3.1-6, 6.1-9, 9.1-12 cm), la trayectoria se evaluó de acuerdo con la dirección seguida por el perno respecto a la superficie ósea del cráneo como (perpendicular o diagonal). Se registró cuando se presentaron disparos en la nuca. Además, la presencia de contenido ruminal en tráquea y laringe y la edad en meses: ≤ 30 o > 30 (basado en la cronología dentaria; la determinación la realizó un operario de la misma planta de matanza).

Valoración de las contusiones en las canales

Para la determinación de la prevalencia y características de las contusiones se observaron 1167 canales que se inspeccionaron para registrar y clasificar las contusiones en un formato diseñado específicamente para el fin; para tal propósito, la canal se dividió visualmente en 3 planos (derecho, centro e izquierdo), y a su vez cada media canal, en las siguientes regiones: 1) pierna, 2) sacra, 3) dorso lumbar, 4) dorso costal, 5) costal, 6) hombro, 7) brazo, 8) lateral del cuello y 9) lateral del abdomen, y 10) caudal.

La inspección se realizó de manera sistemática y en la línea de producción, inmediatamente antes de que las canales se dividieran en dos medias canales; se inició por el plano derecho, seguido de la región dorso lumbar y finalizando por el plano izquierdo de la canal; trayectoria de anterior a posterior en todos los casos.

Las contusiones se clasificaron por edad (color), forma, tamaño en cm, y grado de severidad. Por el color se categorizaron en rojo brillante (contusión reciente; 0-10 h), rojo oscuro (contusión reciente; 24 h) y amarillentas (> 24 h). Por su forma, en moteadas, irregulares, lineales, circulares y en forma de vías de tren. Por su tamaño en pequeñas (≥ 2 y ≤ 8 cm), medianas (> 8 y ≤ 16 cm) y grandes (> 16 cm). La severidad de las contusiones se clasificó como grado 1 (afecta tejido subcutáneo y presenta hemorragia ligera), grado 2 (involucra tejido subcutáneo y muscular, y presenta hemorragia importante), grado 3 (afecta tejido óseo, se observa como fractura) y generalizadas, que corresponden a canales con contusiones múltiples, difusas y de gran tamaño que no fue posible categorizarlas individualmente (Strappini *et al.*, 2009)

Análisis estadístico

Se registró el total y se calcularon las frecuencias (%) para cada uno de los indicadores y sus intervalos de confianza al 95 %. Se determinó si existía dependencia entre las variables usando la prueba de Chi cuadrado con un nivel de significancia de ≤ 0.05 con el procedimiento FREQ de SAS.

Para obtener la prevalencia general de las contusiones se usó el número total de canales que presentaron al menos una contusión y se dividió entre el total de canales observadas. Para el cálculo de riesgo de presentar una contusión se realizó un análisis de regresión logística multivariado con el procedimiento LOGISTIC de SAS donde la variable dependiente fue la presencia de una contusión. Para la selección de variables independientes a incluir en el modelo se realizó por el método *Backward Step by Step* incluyendo las que resultaron significativas ≤ 0.20 en la prueba de Chi cuadrado: sexo, edad y tamaño de cuernos. Los Odds Ratio se estimaron para las variables que resultaron significativas ≤ 0.05 en el análisis multivariado: sexo y tamaño de cuernos. El modelo general fue:

$$\pi(X) = \frac{\exp(\alpha + \sum \beta_i x_i)}{1 + \exp(\alpha + \sum \beta_i x_i)}$$

Donde: $\pi(x)$ es la probabilidad de un resultado positivo a una contusión, β_i son los valores de los coeficientes de regresión, X_i representa el vector de variables independientes (Agresti, 2002).

RESULTADOS

El 10 % de los bovinos recibieron una descarga con la picana eléctrica, a su vez, el 24.2 % recibieron al menos un golpe por parte de los operarios y en 0.94 % se registró torsión de la cola, por otra parte, el 1.35 % de los bovinos resbalaron una vez dentro de la antecámara y el 2.96 % vocalizaron.

El 10.9 % de los bovinos recibieron golpes con la puerta horizontal de guillotina al pasar de la antecámara al cajón de aturdimiento. En cuanto a su comportamiento dentro del cajón, se observó que el 15.5 % esquivaron la pistola aturdidora agachando la cabeza, además, el 1.98 % intentaron salir del cajón por la parte superior mediante saltos, por último, se registraron 16 bovinos (1.38 %) que se atoraron en la puerta abatible al salir del cajón de aturdimiento.

Cinco bovinos (0.43 %) presentaron movimiento ocular. Por otra parte, el 3.27 % de los bovinos no presentaron fase tónica y en el 71.9 % no se observó la fase clónica, el 44.4 % presentaron arqueado de columna una vez izados en el riel y el 62.2 % presentaron sensibilidad al degüello.

Para el tiempo entre el aturdimiento al degüello se observó que el 57.4 % de los bovinos estuvieron en el rango de 31 a 60 segundos, mientras que el 45.3 % sobrepasaron los 60 segundos. De acuerdo al número de orificios que presentaron los cráneos se observó que el 96.6 % presentó un orificio; por otro lado 5 (0.4 %) cráneos presentaron más de dos impactos. En la precisión del disparo se destaca un 82.3 % de cráneos con impacto dentro del rango de 0 a 2 cm del blanco, así como un 0.5 % en el extremo de 5.1 hasta 8 cm. En cuanto a la profundidad del mismo, ésta osciló del rango 3.1-6 cm hasta 9.1-12 cm (11.6 y 8.8 %, respectivamente); se destaca un 79.6 % (908 cráneos) que estuvieron en el rango de 6.1 a 9 cm. Para la trayectoria seguida por el perno penetrante a través del cerebro se observó que la mayor parte (64.5 %) lo hizo perpendicular al hueso frontal del cráneo, contra un 35.5 % que registró una diagonal. La orientación cardinal del orificio registrado se inclinó al Sureste y Suroeste (31.6 y 24.5 %, respectivamente); se destacan 216 cráneos (18.2 %) que presentaron el orificio en el punto ideal (Centro) y 24 cráneos (2.1 %) lo presentaron en la nuca. Finalmente, el 14.6 % de los cráneos mostraron evidencia de contenido ruminal en laringe.

El número de machos que presentaron sensibilidad al degüello superó al de hembras (64.6 % vs 244 (58.0 %); $P= 0.027$) respectivamente. Así, también los machos superaron a las hembras en cuanto al arqueado de columna 47.7 % y 38.5 %, respectivamente ($P= 0.002$). En cuanto a la fase tónica también se observó diferencia estadística significativa ($P= 0.045$); sin embargo, al contrario de las últimas variables descritas, las hembras registraron una mayor presentación de dicha condición (31.6 vs 26.1 %). La edad de los bovinos también fue condicionante para el arqueado de columna, en este caso los bovinos ≤ 30 meses presentaron mayor porcentaje que los > 30 meses (45.5 vs 36.6 %; $P= 0.036$) respectivamente. Para la variable fase clónica ocurrió lo contrario; los bovinos > 30 meses presentaron el mayor porcentaje en contraste a los de ≤ 30 meses (37.8 vs 26.3 %; $P= 0.002$). Por último, para los bovinos a los que el tiempo entre aturdimiento a desangrado superó los 60 segundos presentaron mayor porcentaje de arqueos de cabeza, en contraste a los ≤ 60 segundos (50.7 % vs 39.0 %; $P < 0.0001$).

Para la variable precisión y para trayectoria del disparo no se presentaron diferencias estadísticas; sin embargo, el tiempo > 60 s fue factor para que se presentaran arqueos de

columna (50.6 vs 39.4 %; $P= 0.0002$). El aturdimiento efectivo provocó que menos bovinos presentaran arqueos de columna (37.6 vs 47.0 %; $P= 0.005$).

La prevalencia de contusiones fue de 88.8 %; IC95%= 86.8-90.5). Las canales provenientes de hembras presentaron mayor porcentaje de contusiones que los machos ($P= 0.019$). Además, se observó que animales que presentaron cuernos grandes (> 10 cm), sus canales tuvieron más contusiones comparado con los bovinos con cuernos pequeños (≤ 10 cm) ($P= 0.049$). El sexo fue factor de riesgo para la presentación de contusiones (cuadro 9); las hembras fueron 1.6 veces más susceptibles que los machos ($P= 0.025$). Un segundo factor de riesgo para la presentación de contusiones fue el tamaño de los cuernos, ya que los bovinos con cuernos grandes tuvieron un riesgo 1.5 veces mayor que los bovinos con cuernos pequeños ($P= 0.023$).

De las 1036 canales con contusión y descartando las generalizadas, es decir 1024 canales, 530 (45.9 %) presentaron de 1 a 3 contusiones, 313 (27.1 %) de 4 a 6, 124 (10.7 %) de 7 a 9, 37 (3.2 %) de 10 a 12 y 18 (1.6 %) de 13 a 21.

El lado derecho de las canales fue el que presentó el mayor porcentaje de contusiones (72.9 %), seguido del centro (dorso) (62.0 %) y finalmente el izquierdo con 58.5 %, ($P= 0.000$). En el plano derecho de la canal se observaron 575 canales que presentaron de 1 a 3 contusiones y al plano izquierdo cuatro canales presentaron de 13 a 21 contusiones.

Respecto al color que presentaron las contusiones, destaca el rojo brillante con 960 canales que presentaron la característica señalada (93.7 %); de estas canales la mayor cantidad (575) presentaron de 1 a 3 contusiones de color rojo brillante, además catorce canales presentaron más de 13 contusiones de color rojo brillante. En segundo sitio se muestran las contusiones de color rojo oscuro (29.8 %); para esta característica de contusión se observaron 273 canales con 1 a 3 contusiones y finalmente 54 canales presentaron contusiones de color amarillento. En cuanto a la forma, prevalecieron las canales con contusiones moteadas (71.5 %); adicionalmente, 583 canales presentaron de 1 a 3 contusiones y únicamente en 2 canales se contabilizaron más de 13 contusiones moteadas. En segundo lugar lo ocuparon las contusiones de forma circular (56.5 % de las canales), seguido de las irregulares (29.9 %), lineales (4.0 %) y por último, un 1.8 % de las canales presentaron contusiones en forma de vías de tren, esta última destaca por presentar canales solamente con 1 a 3 contusiones. Las contusiones pequeñas se observaron en 849 canales (82.9 %); estas se distribuyeron en 577 canales con 1 a 3 contusiones y al otro extremo 7 canales con más de 13 contusiones. El 51.6 % de las canales presentaron contusiones medianas y el 26.5 % grandes; el número de canales con 1 a 3 contusiones fue de 487 y 264 para medianas y grandes respectivamente. En cuanto al grado de severidad de las contusiones observadas, en mayoría se destacan las de grado 1 con 980 canales (95.7 %); de estas, 553 canales presentaron de 1 a 3 contusiones y un total de 18 canales con más de 13 contusiones. Las contusiones de grado 2 se presentaron en 233 (22.7 %) canales; de estas, 220 canales presentaron de 1 a 3 contusiones, en adición, se aprecia que el rango mayor fue de 7 a 9 contusiones por canal, en este caso solo una canal presentó tal número. Es de destacar que sólo una canal presentó contusión de grado 3, en este caso se observó fractura de cola. Por último, se presentan las canales que tuvieron contusiones generalizadas, en total 12 (1.1 %) canales. El 58.3 % de las canales presentaron contusiones en el área dorso lumbar; corresponde al área anatómica con mayor porcentaje. Respecto a la

distribución por grado de severidad, el grado 1 presentó un 93.2 %, seguido de contusiones de grado 2 (6.8 %), de acuerdo al número de contusiones, se registraron 1106 contusiones en el área anteriormente referida que corresponde a un 26.4 %, también, cabe mencionar que el 95.5 % corresponden a contusiones de grado 1 y el resto (4.5 %) de grado 2. Le siguen el área sacra con 52.8 % de canales con contusiones y en tercer lugar al dorso costal con 45.5 %.

DISCUSIÓN

La valoración de los indicadores de bienestar, de comportamiento animal y de manejo se presentó de manera separada (cuadro 1 y 2), sin embargo por ser estaciones que son inmediatas se considerarán las variables a discusión en conjunto. El manejo de los bovinos al ingresar a la antecámara y posteriormente al cajón de aturdimiento generalmente lo realiza un mismo operario que se encarga de arrear a los bovinos; el operario aturridor también apoya en las labores de acomodo y arreo de los bovinos. En el presente estudio el porcentaje de bovinos que recibieron descarga eléctrica con la picana fue inferior a la observada por Muños *et al.* (2012) quienes observaron hasta un 49.2 %, además, en su estudio registraron un número también inferior de vocalizaciones puesto que encontraron a un 17.2 % de los bovinos realizar dicha acción, cabe mencionar que los autores relacionaron la aplicación de la picana con las vocalizaciones y señalan que dicho factor pudiera ser una fuente de dolor; por otra parte Grandin, (2007) hace referencia a que un bovino que permanece solitario en el cajón de aturdimiento tiende a vocalizar. Miranda-de la Lama *et al.* (2012) registraron un 10 % de bovinos que vocalizaron en el cajón de aturdimiento, porcentaje superior al observado en el presente trabajo, además observaron que un 67 % de los bovinos recibieron descarga eléctrica con la picana; al respecto los autores mencionan que este último instrumento fue el único utilizado durante sus observaciones, al contrario de lo registrado en el presente estudio que también usaron tubos para movilizar a los bovinos. Otros factores negativos que se observaron, como los golpes por la puerta de guillotina, torsión de la cola y golpes con diferentes objetos se podrían relacionar con falta aptitud y capacitación de los operarios para el manejo de los bovinos, otros como esquivar la pistola aturridora e intentar salir del cajón por medio de saltos podría ser por la falta de equipo de sujeción de cabeza (Gallo *et al.*, 2003).

La prevalencia de contusiones encontradas en los bovinos incluidos en este estudio es menor al 92 % reportado por Miranda-de la Lama *et al.*, (2012) pero mayor al 76 % observado por Sanchez-Perez *et al.*, (2017) en México. Otros resultados similares fueron observados en Chile por Romero *et al.*, (2012) quienes obtuvieron una prevalencia de 84.3 % de canales con contusiones y sugieren que en la presentación general de contusiones y la diferencia entre estudios influyen factores como el temperamento de los animales debido a la raza, sexo, edad al sacrificio, así como también, diferentes sistemas de evaluación, diferencias en el tipo de establecimiento de producción y el manejo pre-sacrificio. Otros trabajos como en Uruguay Huertas *et al.*, (2018) observaron un 90.5 % y en Brasil, Andrade *et al.*, (2018) registraron un 84 % de canales con contusiones resultados también similares al encontrado en el presente estudio.

En este estudio se observó dependencia de la presentación de contusiones por el sexo y el tamaño de los cuernos, además estos fueron factores de riesgo significativos. Mendonça *et al.*, (2018) obtuvieron resultados similares; en su trabajo las hembras presentaron un 91 % más

contusiones en las canales comparado con los machos y estas tuvieron 42 % más probabilidades de presentar una contusión y Romero *et al.*, (2012) que observaron un mayor porcentaje de contusiones en canales de hembras. Según Adzitey (2011), la diferencia entre sexos a presentar contusiones se relaciona con la susceptibilidad de las hembras a ser más reactivas a estímulos estresantes, además de factores como grosor de la piel y cobertura grasa, y diferencia en edad al sacrificio podrían afectar tanto la probabilidad de contusiones así como su apreciación en las canales (Weeks *et al.*, 2002).

LITERATURA CITADA

Adzitey F., 2011. Effect of pre-slaughter animal handling on carcass and meat quality. *International Food Research Journal* 18: 485-491. ISSN: 2231 7546 https://scholar.google.com.mx/scholar?q=Effect+of+preslaughter+animal+handling+on+carcass+and+meat+quality.+International+Food+Research+Journal&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar

Agresti A., 2002. *Categorical Data Analysis*. 2nd ed. Wiley Interscience. EUA

Andrade E., Silva, R., Oliveira-Roça, R., Silva, L., Gonçalves, H. y Pinheiro, R. 2008. Ocorrência de lesões em carcaças de bovinos de corte no Pantanal em função do transporte. *Ciência Rural*. 38(7): 1991-1996. ISSN: 1678-4596. DOI: 10.1590/S0103-84782008000700030

Alende M., Volpi G., Pordomingo A.J., Pighín D., Grigioni G., Carduza F., Pazos A., Babinec, F. y Sancho, A.M. 2014. Efectos del tiempo de transporte, espera pre-faena y maduración en novillos sobre indicadores de estrés, calidad instrumental y sensorial de la carne. *Arch. Med. Vet.* 46: 217-227. ISSN: 0301-732X. DOI: 10.4067/S0301-732X2014000200007

Cobo A.C.G., y Romero P.M.H. 2012. Importancia de la interacción hombre-animal durante el presacrificio bovino: revisión. *Biosalud*. 11: 79-91. ISSN 1657-9550. www.scielo.org.co/pdf/biosa/v11n2/v11n2a09.pdf

Gallo C., Teuber C., Cartes M., Uribe H., y Grandin T. 2003. Mejoras en la insensibilización de bovinos con pistola neumática de proyectil retenido tras cambios de equipamiento y capacitación del personal. *Arch. Med. Vet.* 35:2 159-170. ISSN: 0301-732X DOI: 10.4067/S0301-732X2003000200004

Grandin T. 2007. *Livestock handling and transport*. 3 ed. CAB international. UK.

Godoy F.M., Fernández P.H., Morales M.M.A., Ibarra M.L., Sepúlveda C.C. (1986). Contusiones en canales bovinas. Incidencia y riesgo potencial. *Avances en Ciencias Veterinarias* 1(1): 22-25. ISSN: 0719-5273. DOI: 10.5354/0719-5273.2010.10378

Huertas S.M., Kempener, R.E.A.M. AND van Eerdenburg F.J.C.M. 2018. Relationship between methods of loading and unloading, carcass bruising, and animal welfare in the transportation of extensively reared beef cattle. *Animals*. 8:119. ISSN: 2076-2615 DOI: 10.3390/ani8070119

INEGI (2018). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Disponible en: <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/sin/territorio/clima.aspx?tema=me&e=25>. (Consultado: 10 de octubre de 2018).

Mendonça F.S., Vaz R.Z, Cardoso F.F., Restle J., Vaz F.N., Pascoal L.L., Reimann F.A., and Boligon A.A. 2018. Pre-slaughtering factors related to bruises on cattle carcasses. *Animal Production Science*. 58: 385-392. ISSN: 1836-0939 DOI: 10.1071/AN16177

Miranda-de la Lama G.C., Barreras-Serrano A., Pérez-Linarez C., Sánchez-López E., María G.A., Figueroa-Saavedra F. 2012. Assessment of cattle welfare at a commercial slaughter plant in the northwest of Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 44:497-504. ISSN: 0049-4747 DOI: 10.1007/s11250-011-9925-y

Muños D., Strappini A., Gallo C. 2012. Indicadores de bienestar animal para detectar problemas en el cajón de insensibilización de bovinos. *Arch. Med. Vet.* 44 297-302. ISSN: 0301-732X DOI: 10.4067/S0301-732X2012000300014

Nanni-Costa L., Lo Fiego D.P., Tassone F. y Russo V. 2006. The relationship between carcass bruising in bulls and behavior observed during pre-slaughter phases. *Vet. Res. Comm.* 30:379-381 ISSN: 1573-7446 DOI: 10.1007/s11259-006-0086-9

Romero P.M.H., Gutierrez T.C., y Sánchez V., J.A. 2011. Evaluación del manejo presacrificio y su relación con la presencia de contusiones en las canales bovinas. *Biosalud*. 10:2 28-36. ISSN: 1657-9550 http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1657-95502011000200004&script=sci_abstract

Sanchez-Perez J.N., Rios-Rincon F.G., Leyva-Medina K.H., Robles-Estrada J.C., and Portillo-Loera J.J. 2017. Prevalence and characteristics of bruises of beef cattle carcasses from two regions of northwest Mexico. *J. Anim. Sci.* 95:4(Issue Suppl) 13. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/asasann.2017.025

Strappini A.C., Metz J.H.M., Gallo C., Kemp B. (2009). Origin and assessment of bruises in beef cattle at slaughter. *Animal* 3(5): 728-736. ISSN: 1751-732X DOI: 10.1017/S1751731109004091

Weeks C., McNally P., and Warriss P. 2002. Influence of the design of facilities at auction markets and animal handling procedures on bruising in cattle. *The Veterinary Record*. 150: 743-748. ISSN: 2042-7670 DOI: 10.1136/vr.150.24.743

IDENTIFICACIÓN DE *Chlamydia abortus* EN RUMIANTES DEL ESTADO DE SINALOA

Rebeca Castro Flores¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Efrén Díaz Aparicio², Idalia Enríquez Verdugo¹

Doctorado en ciencias agropecuarias

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

² CENID microbiología animal-INIFAP México D.F.

RESUMEN

La clamidiosis es una enfermedad infecciosa ocasionada por *Chlamydia abortus* que afecta a ovinos, caprinos y bovinos; causa abortos durante el último tercio de la gestación o el nacimiento de crías débiles, que generalmente mueren durante los primeros días de vida. En México se han realizado diversos reportes de la enfermedad en pequeños rumiantes. El control de esta enfermedad es relevante para la salud animal, y representa un riesgo zoonótico para los grupos expuestos en actividades pecuarias durante el manejo y el cuidado de los animales enfermos. El objetivo del presente trabajo tiene como finalidad identificar la presencia de *C. abortus* en casos de abortos en rumiantes de rebaños de Sinaloa, para ello se analizaron 132 muestras de hisopados vaginales y sueros sanguíneos de hembras que presentaron aborto por método de ELISA, PCR y aislamiento en cultivo bacteriano.

Palabras claves: Clamidiosis, aborto, rumiantes.

ABSTRACT

Chlamydia infection is an infectious disease caused by *Chlamydia abortus* affects sheep, goats and cattle; cause abortions during the last third of gestation or birth of weak offspring, which usually die during the first days of life. In Mexico chlamydiosis in ruminants it is classified in group 1, composed of exotic diseases, which are not in the country and therefore are notifiable. However, in Mexico there have been various reports of the disease in small ruminants. Control of this disease is relevant to animal health, and represents a zoonotic risk groups exposed in livestock activities during handling and care of sick animals. The aim of this paper aims to identify the presence of *C. abortus* in cases of abortions in ruminants flocks of Sinaloa, for that at least 132 samples of vaginal swabs and blood sera of females who have submitted abortion they will be analyzed over a period not more than 4 weeks of submission of abortion in 30 cattle, 30 goats and 30 sheep by ELISA, PCR and bacterial culture isolation.

Keywords : chlamydiosis , abortion , ruminants.

INTRODUCCIÓN

Chlamydia abortus es un [género de bacterias gram negativas](#) perteneciente a la familia Chlamydiaceae, orden [Chlamydiales](#), [filo Chlamydiae](#). *C. abortus* anteriormente llamada *C. psittaci* tipo I o *Chlamydophila abortus* (Everett *et al.*, 1999) causa el aborto enzoótico de los pequeños rumiantes (AEPR) es una enfermedad infecciosa, afecta a ovinos, caprinos y bovinos; causa abortos durante el último tercio de la gestación o el nacimiento de crías débiles, que generalmente mueren durante los primeros días de vida (Kuo *et al.*, 2011).

En 1996 se realizó el aislamiento de *C. psittaci* en rebaños ovinos de cinco estados del país (Escalante-Ochoa *et al.*, 1996), mientras que en 1997 se reportó la presencia de *C. psittaci* en rebaños caprinos (Escalante-Ochoa *et al.*, 1997). Mora (2008) realizó un estudio serológico en rebaños caprinos lecheros de seis estados del país y se encontraron anticuerpos contra la bacteria. En 2001 se demostró la participación de *Chlamydia* spp. en infecciones zoonóticas en México, que se relacionaron con ganado caprino y ovino infectado con este agente (Escalante *et al.*, 2001). El control de esta enfermedad es relevante para la salud animal, y representa un riesgo zoonótico para los grupos expuestos en actividades pecuarias durante el manejo y el cuidado de los animales enfermos. El riesgo se incrementa en las personas inmunocomprometidas y en embarazadas, ocasionando abortos espontáneos, si la infección ocurre en el primer trimestre puede causar mortinatos y labor prematura.

En México la clamidiosis en rumiantes se encuentra clasificada en el grupo 3, que está integrado por las enfermedades endémicas, se encuentran en el territorio nacional y por ende son de notificación obligatoria mensual. En el país se han realizado diversos reportes de la clamidiosis en pequeños rumiantes, en 1997 se hizo el primer reporte de aislamiento de la bacteria a partir de un aborto en caprinos (Escalante *et al.*, 1997); en 2001 se demostró la participación de *Chlamydia* spp en un proceso zoonótico a partir de ganado caprino (Escalante *et al.*, 2001).

En el año 2012 se realizó un muestreo en rebaños caprinos del estado de Guanajuato y como resultado se obtuvieron 43 aislamientos de *C. abortus* a partir de muestras de exudado vaginal de cabras que abortaron o que estaban recién paridas (Mora *et al.*, 2015).

En otro trabajo durante los años de 2012 y 2013, se determinó la presencia de *C. abortus* en casos de abortos en rebaños caprinos, se tomaron muestras de exudado vaginal de cabras de parto reciente con historial de aborto, de cabras con aborto reciente y de fetos abortados, se obtuvieron 186 muestras procedentes de 49 rebaños de los estados de Coahuila, Jalisco, Puebla, Veracruz y Querétaro. Mediante el aislamiento bacteriano se encontró un 23.1% de muestras positivas a inclusiones clamidiales durante la infección en las células L929, la PCR mostró un 9.6% de muestras positivas. El análisis de la secuencia de los productos de amplificación mostraron una homología del 99% con *C. abortus* cepa A.22, FAS, S26, EBA y VPG. (Sánchez, 2014).

En México la población ovina en 2012 era de 8, 405, 902 cabezas, produciendo 58, 000 toneladas de carne. Por otro lado, en 2012, tenía cerca de 32 millones de cabezas de bovinos, siendo 29, 526, 542 cabezas de ganado de carne, que produjeron 1, 806, 750 toneladas y de ganado de producción de leche 2, 298, 639 cabezas que produjeron 11 millones de toneladas de leche: En el rubro de ganado de carne, la gran mayoría son bovinos de zonas tropicales que se dedican al doble propósito; esto es, obtener el becerro y la leche restante venderla y/o auto consumirla.

En un estudio serológico realizado en rebaños ovinos durante 2011-2013, se analizaron 5, 321 muestras sanguíneas de hembras en 209 explotaciones de 61 municipios en siete estados de la República Mexicana. Los resultados mostraron que la prevalencia en ovinos para Sonora fue de 12.45 % (102/819), Chiapas 9.69 % (60/591), Querétaro 10.15 % (79/815), Chihuahua 11.56 %

(107/925), Tlaxcala 13.08 % (73/558), Hidalgo 11.34 % (97/855) y para el Estado de México 7.09 % (63/758). La frecuencia de rebaños positivos fue para Sonora del 12.45 % (102/819), Chiapas 31.57% (12/38), Querétaro 67.18% (43/64), Chihuahua 24.32% (9/37), Tlaxcala 33.33% (12/36), Hidalgo 67.39 % (31/46) y para el Estado de México 25.45% (14/55) (Mejía *et al.*, 2014).

Durante el periodo enero de 2010 a diciembre de 2012, se realizaron muestreos en varios hatos dedicados a la cría y explotación de bovinos lecheros de diferentes estados, mediante la ELISA se determinó la frecuencia de animales positivos a *C. abortus* de hatos con antecedentes de aborto. De un total de 833 muestras analizadas, 90 de ellas (10.8%) resultaron positivas. En Guanajuato se reportó un 6% (15/237) de animales seropositivos, el 18.5% (15/81) de los hatos muestreados tienen al menos un animal seropositivo. En Aguascalientes se observó que el 5.8% (13/221) de los animales presentaron anticuerpos contra *C. abortus*, estos animales pertenecieron a 17 de los 46 hatos muestreados. En Veracruz se detectó que el 8.6% (18/208) de los animales fueron seropositivos, en Puebla el 13% (6/46) de los animales mostraron seropositividad, mientras que en el Estado de México el 2.9% (1/35) fueron positivos. En Hidalgo, Morelos y Tlaxcala la seropositividad fue del 9% (5/53) 57% (12/21) y 57% (12/21) respectivamente. Además, cabe mencionar que en muchos lugares de nuestro país las especies antes mencionadas conviven en hatos mixtos, por lo que el riesgo de transmisión inter-especie es posible (Limón *et al.*, 2011). Es importante mencionar que la utilización de las técnicas serológicas para la identificación de anticuerpos contra *C. abortus* es limitada, pues al ser considerada como una enfermedad exótica, no se tiene acceso a pruebas comerciales de ELISA, los permisos de importación para éstos son tardados y las pruebas son costosas. Por tal motivo los laboratorios de diagnóstico de nuestro país no cuentan con las técnicas diagnósticas adecuadas. En nuestro país la clamidiosis en rumiantes al ser considerada como enfermedad exótica, se está impidiendo que puedan aplicarse medidas de control y de prevención en caprinos, ovinos y bovinos, donde existe evidencia de la enfermedad y el no llevar a cabo medidas de control permite la diseminación de la enfermedad provocando una enfermedad emergente. Es por ello necesario demostrar la participación de este agente patógeno en casos de abortos, y de este modo implementar y estandarizar pruebas de diagnóstico rutinarias para *C. abortus*, que sean transferidas a los laboratorios y así puedan ser útiles en los programas de control.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

C. abortus causa aborto y pérdidas económicas en rumiantes, existe evidencia de la presencia de la enfermedad en diversos estados del país, sin embargo es considerada como enfermedad endémica, se dificulta el diagnóstico y la adquisición de material diagnóstico así como la implementación de medidas sanitarias; además, la movilización del ganado juega un papel muy importante en la diseminación de la enfermedad pudiendo infectarse los rebaños de un lugar a otro.

El control de esta enfermedad es relevante para la salud animal, y representa un riesgo zoonótico para los grupos expuestos en actividades pecuarias durante el manejo y el cuidado de los animales enfermos. El riesgo se incrementa en las personas inmunocomprometidas y en embarazadas, ocasionando abortos espontáneos, si la infección ocurre en el primer trimestre puede causar mortinatos y labor prematura.

HIPÓTESIS

Chlamydia abortus está presente en casos de abortos en rumiantes de Sinaloa.

OBJETIVO GENERAL

Identificar la presencia de *C. abortus* en casos de abortos en rumiantes de Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislamiento de *C. abortus* utilizando las muestras de exudado vaginal de bovinos, ovinos, y caprinos, placentas y fetos abortados, en cultivo celular de fibroblastos de ratón.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron muestras de 1 borrega, 99 cabras y 32 vacas con aborto reciente o recién paridas con historial de abortos, en el estado de Sinaloa. Se colectaron de cada animal muestras de suero y de exudado vaginal dentro de un periodo de dos a tres semanas después del parto o del aborto (Mora *et al.*, 2015). Las muestras se colectaron con hisopos estériles, y se transportó al laboratorio en un tubo cónico de polipropileno de 15 ml, adicionado con 2 ml de SPG (sacarosa–fosfato /glutamato), suplementado con 10% de suero fetal bovino y gentamicina a 4°C. En el laboratorio se congelaron a -20°C hasta su procesamiento. Los hisopos fueron esterilizados y manejados como residuos biológicos-infecciosos antes de ser desechados. El medio de transporte con las muestras fué transferido a micro tubos estériles identificados y conservados a -20 °C.

Aislamiento e identificación de *Chlamydia* spp., en cultivo celular. Los aislamientos y la propagación de la cepa de referencia *C. abortus* A.22, se realizarán en los laboratorios de bioseguridad del departamento de Enfermedades de los pequeños rumiantes del CENID Microbiología del INIFAP, y del departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ este último está certificado ante SAGARPA. Previo a la infección con las muestras clínicas, se propagarán monoestratos celulares de fibroblastos L929 de ratón en botellas de poliestireno de 75 cm². Las células serán cultivadas en Medio Mínimo Esencial (MEM) de Eagle, suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino (SFB), aminoácidos no esenciales 1%, L-Glutamina 1% en condiciones de humedad en incubadora a 37°C con un 5% de CO₂ (Escalante *et al.*, 1996). Se utilizarán placas de poliestireno de 24 pozos con cubreobjetos de vidrio estériles de 12 mm de diámetro para la identificación de cuerpos clamidiales por la técnica de inmunofluorescencia, en paralelo se hará uso de placas de 24 pozos sin cubreobjetos para efectuar pases ciegos adicionales en caso de ser necesario. La concentración celular que se empleará será de 0.9 X 10⁵ células por pozo, dejándose incubar 24 h hasta obtener un 80-90% de confluencia (Mora *et al.*, 2015).

Proceso de infección. Una vez alcanzada la confluencia de 80-90% se retiraron por completo el MEM-C de cada uno de los pozos e inmediatamente se agregarán 100 µl del inóculo por pozo. Por cada muestra clínica se utilizaron dos pozos, uno por placa. Cada placa cuenta con una muestra testigo positivo y testigo negativo. Las placas se incubaron durante 1 h a 37°C, para facilitar la infección se transportaron a una incubadora orbital por 30 min más, a 37°C y 50 rpm en condiciones de humedad. Tras este tiempo se agregó 900 µl de MEM-C, adicionado con

gentamicina 50 µg/ml y estreptomina 100 µg/ml a cada pozo. Las placas en incubaron a 37°C con un 5% de CO₂ durante 72 h. Al concluir el periodo de incubación, se realizó un raspado en los pozos de las placas sin cubreobjetos para obtener el tapete celular, las células junto con el MEM se conservó en microtubos estériles identificados y congelados a -70°C.

A las placas con cubreobjetos se les retiró por completo el MEM-C y se les realizó tres lavados con Solución Salina de Fosfatos (PBS) de 5 min cada uno. Una vez retirado por completo el PBS se fijó la muestra con 1 ml de metanol puro, en algunos casos se sustituyó por acetona, ambos a -20°C por pozo, las placas fueron conservadas a -70°C hasta que se realizó la inmunofluorescencia.

Determinación de cuerpos de inclusión. Para la identificación de las inclusiones intracitoplasmáticas producidas por *C. abortus* se empleó la técnica de inmunofluorescencia directa utilizando la prueba comercial IMAGENTM Chlamydia test (OXOID, UK). Esta prueba comercial detecta el lipopolisacárido (LPS) de la bacteria, mediante el uso de anticuerpos monoclonales específicos marcados con fluoresceína. Para realizar la inmunofluorescencia directa se colectó los cubreobjetos previamente fijados con alcohol o acetona y conservados a -70°C, se extrajo de las placas y se dejó secar a temperatura ambiente. A cada cubreobjeto fijado se le aplicó 25 µl de Fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) diluido 1/5 con PBS y se incubó en atmosfera húmeda por 30 min a 37°C. Como colorante de contraste en esta dilución se utilizó 2 µl de Azul de Evans al 0.5%. Una vez transcurrido este tiempo se les realizó tres lavados con PBS y se secó a temperatura ambiente (Mora *et al*, 2015). Los cubreobjetos secos se montaron sobre portaobjetos limpios con el medio de montaje proporcionado en el Kit, se fijaron al portaobjetos con una pequeña cantidad de barniz alrededor del cubreobjetos y se observó en microscopio de luz ultravioleta con objetivos de 40x y 100x. Una muestra es negativa si después de la realización de dos pases ciegos no se detectan inclusiones intracitoplasmáticas (World Organization for Animal Health , 2008).

RESULTADOS Y DISCUSION

Del total de las 116 muestras colectadas se obtuvieron 27 muestras positivas en las tres especies de rumiantes las cuales 1 pertenece a una borrega de la zona centro de Culiacán en una explotación dedicada a pie de cría de Pelibuey; 18 Caprinos positivos de los cuales 1 cabra Nubia proveniente de Navolato en una explotación dedicada a la producción de animales para el abasto y consumo de birria de la región, 12 caprinos Nubios y Boer positivos provenientes de Culiacán en una explotación dedicada a pie de cría y 5 caprinos positivos de la raza alpina en una explotación dedicada a pie de cría en la zona centro de Culiacán; 8 bovinos positivos de los cuales 1 pertenece a la zona centro de Culiacán en una explotación dedicada a la producción doble propósito (carne y leche) de la cruce suizo americano con cebú, 1 bovino de Navolato perteneciente a una explotación lechera de la raza Holstein, 1 bovino de San Pedro Suizo americano perteneciente a una explotación de pie de cría y 5 bovinos de la raza Simbrah perteneciente a una explotación dedicada a la producción de carne en Badiraguato, cabe mencionar que éstos 5 bovinos fueron transportados desde Tabasco cuando los animales se encontraban gestantes y a la llegada a la explotación comenzaron a abortar.

Cuadro 1. Muestras positivas a *Chlamydia spp.* con la técnica de aislamiento en cultivo bacteriano en las tres especies de rumiantes de la zona centro de Sinaloa.

Especie	-	+	total
Ovino	0	1	1
Caprino	68	18	86
Bovino	21	8	29
	89	27	116

El aislamiento por cultivo bacteriano es considerado como prueba de oro en el diagnóstico de *Chlamydia* (Storz, 1971.)

En 2010 y 2011, la prueba ELISA se usó en un estudio de seis regiones mexicanas consideradas como las más importantes zonas caprinas: Puebla, Guerrero, Baja California Sur, Comarca Lagunera, Tlaxcala y San Luis Potosí. En este caso se encontraron los siguientes porcentajes para cada una de las regiones mencionadas: 0.18%, 4%, 5%, 7.3%, 10%, y 11%, respectivamente. En dicho estudio, los investigadores tomaron muestras de cabras mayores de dos años en unidades de producción con historiales de abortos (Aguilar *et al.*, 2011). Campos-Hernández *et al.* (2014) demostraron una alta seroprevalencia e hicieron la identificación molecular de *C. abortus* en granjas comerciales de caprinos lecheros de una región tropical en México, aunque no se llegó al aislamiento bacteriológico del microorganismo.

CONCLUSIONES

En Sinaloa no se encuentran estudios previos que demuestren la presencia de *Chlamydia spp.* en rumiantes. De acuerdo con los reportes de clamidiosis en rumiantes de México, Sinaloa se suma a los estados afectados por *Chlamydia spp.* como lo son el estado de Tlaxcala, Estado de México, San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro (Mora *et al.*, 2009) donde se utilizó la técnica de ELISA para el diagnóstico de *Chlamydia* en caprinos; Los resultados demostrados en el presente trabajo evidencian la presencia de clamidiosis en las tres especies de rumiantes. En el presente trabajo se obtuvo una frecuencia de 23.28 % en las muestras analizadas por aislamiento sin embargo es necesario complementar éstos resultados obtenidos con la técnica de PCR para conocer la especie de *Chlamydia* que se encuentra presente en los rebaños de Sinaloa.

LITERATURA CITADA

Anzonela L. 2008. *Chlamydia, Micoplasma y Rickettsia*. P. 1-9 <http://www.educa2.madrid.org/web/educamadrid/principal/files/6046b373-a0b6-4737-8f6b-4553dfefcd53/15.%20Chlamydia,%20Micoplasma%20y%20Rickettsia.pdf> [Consultado en Febrero del 2016].

Buxton D. 1998. Aborto infeccioso en ganado ovino por toxoplasma y otros agentes infecciosos.

Moredun Research Institute, International Research Centre Pentland Science Park, Bush Loan, by Edinburgh EH26 0PZ., Scotland, UK.

Cohen J. 1960. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement* 20:37-46.

Cuello F., Salinas J., Caro M. R., Gallego M. C., Sánchez-Gallego M. J., Buendía A. J.; Bretón J. 1992. Prevalencia de la clamidiosis ovina y caprina en la región de Murcia. p. 40-45.

Diab S. S., Uzal F. A. 2007. Diagnostico de las causas más comunes de aborto infeccioso en ovinos y caprinos. University of California Davis.

Escalante-Ochoa C, Díaz-Aparicio E, Segundo-Zaragoza C. and Suárez-Güemes F. 1997. Isolation of *Chlamydia psittaci* involved in abortion of goats in Mexico : first report. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 39: 117-122.

Escalante-Ochoa C, Rivera-Flores A, Trigo-Tavera F, and Romero-Martinez J. 1996. Detection of *Chlamydia psittaci* in enteric subclinical infections in adult sheep, through cell culture isolation, *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 38: 17-23.

Escalante OC, Lazcano C, Soberón A. 2001. *Chlamydophila* spp. como agente zoonótico en México (*Chlamydophila* spp as a zoonotic agent in Mexico). *XXXVIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

Everett KD, Bush RM, Andersen AA. 1999. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *International Journal of Systematic Bacteriology* 49:415-440.

Griffiths P. C. 2011. Las infecciones por clamidia en animales. Veterinary Laboratories Agency (Weybridge).

Kuo CC, Stephens RS, Bavoil PM, Kaltenboeck B. 2011. Genus *Chlamydia*. In: Krieg NR, Staley JT, Brown DR, Hedlund BP, Paster BJ, Ward NL, Ludwig W, Whitman WB. (editors) *Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume 5: the actinobacteria, part A*. 2nd ed. New York, Springer: Heidelberg.

Limón GMM, Favila HLC, Herrera LE, Lozano DRR, Melendez SRM, Morales AJF, Díaz AE, Vitela MI, Córdoba LD. 2011. Clamiodofilosis en vacas lecheras con problemas reproductivos en Guanajuato y Aguascalientes: Resultados preliminares. Memorias de la XLVII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Mérida, Yucatán, México.

Longbottom D., Entrican G., Wheelhouse N., Brough H., Miln C. 2013. Evaluation of the impact and control of enzootic abortion of ewes. *The Veterinary Journal*, Vol. 195: p. 257-259.

Mejía SP, Díaz AE, Aguilar RF, Palomares RG, Jiménez SH, Castañeda RV, Cortés PYA. 2014. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a *Chlamydia abortus* en México. Memorias de la L Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Mérida, Yucatán, México.

Mora DJC, Díaz AE, Herrera LE, Suárez GF, Escalante OC, Jaimes VS, and Arellano-Reynoso B. 2015. Isolation of *Chlamydia abortus* in dairy goat herds and its relation to abortion in Guanajuato, Mexico. Veterinaria MexicoOA Vol. 2 No. 1

OIE. 2004. Manual de la OIE sobre animales terrestres, Capítulo 2.4.7. — Aborto enzootico de las ovejas (clamidiosis ovina) Pp 683 689.

OIE. 2011. Código Sanitario para los Animales Terrestres, Captitulo 14.5. — Infección a *Chlamydomphila abortus* (Aborto enzootico de las ovejas, Clamidiosis ovina) Pp. 1-2

Rodolakis A., Mohamad K. Y. 2010. Zoonotic potential of Chlamydomphila. P. 382- 391

Rodolakis A. 2001. Clamidiosis en cabras. International Veterinary Information Service.

Sambrook, J and Russell DW. 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, CSHL Press.

Sánchez Rocha Liliana. Presencia de *Chlamydia abortus* en cabras de México. Tesis de Maestría en ciencias de la producción y salud animal Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2014.

The Center for Food Security and Public Health (CFSPH), 2009: Clamidiosis Zoonótica. In: In: Institute for international cooperation in animal biologics.(consultado en mayo 2016)

<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/clamidiosis.pdf> Tizard I. 2000. Veterinary Immunology. An Introduction. 6a edition. WB Saunders Company. Philadelphia, USA.

Wilton J. P., Aparecido R., Piatti M., Da Fonseca A. A., Melo A., De Abreu S. R., Aires G., Barreto R. M., 2010. Seroprevalence of antibodies to *Chlamydomphila abortus* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, Vol. 41: 358-364 pp.

World Organization for Animal Health O. Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydomphila). In: OIE, editor. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Sixth edition. Paris, France: World Organisation for Animal Health; 2008. p. 1013–1020.

UTILIZACIÓN DE EXTRACTO DE TANINOS EN LA DISMINUCIÓN DE PRODUCCIÓN DE GAS Y COMPUESTOS ASOCIADOS CON LOS OLORES EN LAS HECEs DE BOVINOS EN ENGORDA

Eva Xitlalic Murillo Ayala¹, Rubén Barajas Cruz¹, Javier Alonso Romo Rubio¹, Idalia Enríquez Verdugo¹. Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa¹.

xitla.muri@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El aumento en el tamaño de las explotaciones pecuarias y su cercanía cada vez mayor a los centros de población, los problemas relacionados con la contaminación ambiental se vuelven de atención prioritaria (Adeola, 1999). El manejo de las excretas de las explotaciones de bovinos en confinamiento, se relaciona con el impacto al medio ambiente, y en este sentido la reducción en la emisión de sólidos, líquidos y especialmente olores son factores que presionan a la ganadería intensiva; los olores son producidos por las sustancias orgánicas que se volatilizan en forma de gas y de esta manera se difunden en el ambiente (Archibeque *et al.*, 2006). Una alternativa para disminuir la emisión de olores, es reducir la cantidad de gases producidos por las heces, los extractos de taninos han probado ser de utilidad para disminuir la producción de gas modificando la fermentación en rumen (Bernal *et al.*, 2008; Lascano y Cárdenas, 2010; Cárdenas, 2012); esto se le atribuye a que los taninos son capaces de unirse a las proteínas de la membrana celular de una serie de bacterias ruminales por lo que modifican su estructura y función, inhibiendo su capacidad de unirse a las partículas de alimento y la posibilidad de fermentar los nutrimentos contenidos en ellas (Cárdenas, 2012). Murillo (2013), reporta que la inclusión de taninos condensados a las heces de bovinos en engorda disminuye la producción de gas derivadas de las excretas. Este trabajo se llevará a cabo con el objetivo de determinar la influencia de la adición de extracto de taninos en la producción de gas y compuestos asociados con los olores en las heces de los bovinos de engorda.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La acumulación de animales en engordas intensivas producen enormes cantidades de excremento generadores de varios tipos de contaminación, entre ellos la provocada por la producción de gas en las heces de los bovinos y en consecuencia la liberación de olores desagradables; es de interés explorar la utilidad de los extractos de taninos para disminuir la cantidad de gases producidos en las heces de los bovinos en engorda y con ello reducir concomitantemente los olores desagradables.

HIPÓTESIS

La adición de extracto de taninos a las heces de bovinos en engorda, disminuye la producción de gas y compuestos asociados con los olores.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la influencia de la adición de extracto de taninos en la producción de gas y compuestos asociados con los olores en las heces de los bovinos de engorda.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Medir la influencia de la adición de diferentes niveles de extracto de taninos condensados a la heces en la producción de gas *in vitro* en las propias heces de los bovinos de engorda. 2. Medir la concentración de AGV de la producción de gas en las heces de bovinos en engorda. 3. Medir la concentración de compuestos aromáticos de la producción de gas en las heces de bovinos en engorda.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación en Nutrición y Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa y en MZ Ganadera localizada en Culiacán, Sinaloa, con la siguiente localización geográfica: 24°90' de latitud Norte, 107°49' de longitud Oeste, 40msnm, temperatura media anual de 24.8 °C; mínima 16.3 °C y máxima 44.5 °C, precipitación pluvial media anual de 665.6 mm, predominando el clima tropical seco (García, 1981; INEGI, 2009). Todos los bovinos que se utilizaron en los experimentos fueron tratados de acuerdo con las recomendaciones de la Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching (FASS, 2010).

Experimento 1. Influencia del nivel de extracto de taninos condensados en la producción de gas *in vitro* en las heces de bovinos de engorda.

Se utilizaron muestras de heces de 8 toretes de $420 \pm$ (DE) 10 kg. Alojados en 1 corral con dieta de finalización (12.95 % PC; 1.98 Mcal ENm; 1.32 Mcal ENg), formulada con paja de maíz y grano de maíz quebrado (Cuadro 1). Se tomaron muestras de heces de cada uno de los toretes directamente del recto de cada animal utilizando guantes de látex (aproximadamente 200 g) y se colocaron inmediatamente en bolsas de plástico, cerradas e identificadas, y fueron transportadas de inmediato al Laboratorio de Investigación en Nutrición y Producción Animal de la FMVZ-UAS; en donde se procesaron para contabilizar la producción de gas de las heces.

Las ocho muestras tomadas de cada uno de los becerros se mezclaron en una licuadora (5 min) para constituir una muestra compuesta. De la muestra compuesta de heces se tomaron alícuotas de aproximadamente 20 gramos para determinar MS (24 h a 105 °C; AOAC, 1995).

La muestra compuesta ya constituida se dividió en cuatro porciones de 300 g, y se disolvieron en 300 g de agua destilada, (homogenizadas en una licuadora durante un minuto) las que en base a un diseño completamente al azar, fueron asignadas en forma aleatoria a uno de cuatro tratamientos: 1; Incubación sin la inclusión de extracto de taninos (Testigo), 2; Adición de 4% en base seca (BS) de extracto de taninos condensados (TC), 3; Adición de 8% (BS) de extracto de taninos condensados (TC) y 4; Adición de 12% (BS) de extracto de taninos condensados (TC)

El extracto de taninos condensados fue proporcionado como Bypro ® (INDUNOR; Buenos Aires, Argentina), que contiene 70 % de extracto de taninos condensados obtenidos del árbol de Quebracho (*Schinopsis balansae*).

El procedimiento de incubación se realizó de la siguiente manera: a cada una de las diluciones de 300 g de heces de la muestra compuesta con 300 mL de agua destilada, se le adicionó el extracto de taninos que le fue asignado en base a un diseño completamente al azar (Hicks, 1973). Y de cada una de las diluciones ya con los tratamientos se depositaron 100 g de la dilución, en frascos de plástico con tapón de rosca con capacidad de 400 mL, formando 4

repeticiones por tratamiento. Se agitaron durante un minuto para homogenizar las muestras y fueron acondicionados con un tubo de plástico antiadherente y con ausencia de poros (Tygon®; Saint-Gobain; Francia). Los frascos se cerraron inmediatamente y se colocaron en un baño maría a 37°C; el extremo opuesto del tubo de plástico se colocó en el interior de una probeta de vidrio graduada de 250 mL, llenada con agua destilada y colocada en posición invertida dentro de un baño de agua (Miller y Varel, 2001; Miller *et al.*, 2006). Cada una de las probetas se identificó con los datos del tratamiento respectivo.

Las muestras se incubaron durante las primeras 24 h de producción. La producción de gas se contabilizó como la cantidad de agua desplazada por el gas dentro de cada probeta expresada en mL. Se tomaron muestras de la fase líquida (5 mL) y se congelaron a – 7°C hasta ser utilizados para determinación de AGV y compuestos aromáticos en el laboratorio.

Cuadro 1. Composición de la dieta utilizada en el Experimento 1.

Ingredientes	Dieta, %
	Finalización
Paja de maíz	12.00
Maíz quebrado	59.50
DDGS	12.50
Premezcla con urea	4.0
Aceite reproceso	2.5
Zeolita	1.5
Melaza de caña	8.0
Total	100 %
	Análisis calculado (en base seca) †
PC, %	12.95
ENm, Mcalkg ⁻¹	1.98
ENg, Mcalkg ⁻¹	1.32

† Valores calculados con base al NRC (2000).

Análisis estadístico. A los resultados se les aplicó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar (Hicks, 1973). Se fijó un nivel máximo de $P \leq 0.05$ para aceptar diferencia estadística. El comportamiento lineal o cuadrático se exploró con el uso de polinomios ortogonales. Todos los cálculos estadísticos se desarrollaron con la versión 9 del paquete computacional Statistix® (2007).

El modelo matemático (Hicks, 1973) que se utilizó fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta

μ = Media general

τ_i = Efecto del j-ésimo tratamiento

ε_{ij} = Error aleatorio (experimental)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la influencia de la adición de diferentes dosis de extracto de taninos a las heces de bovinos en la producción de gas *in vitro* se presentan en el Cuadro 2. En la figura 1, se presenta la descripción gráfica de la influencia del porcentaje de extracto de taninos en la producción de gas en las heces de bovinos. Donde los tratamientos tienen un comportamiento lineal ($p \leq 0.001$).

Cuadro 2. Influencia de la adición de diferentes dosis de extracto de taninos a las heces de bovinos en la producción de gas *in vitro* (Experimento 1).

Variables	Tratamientos				EEM [†]	P _≤
	Testigo	TC 4%	TC 8%	TC 12%		
Repeticiones, n	4	4	4	4		
Extracto de taninos						
Gramos /Tratamiento	0.00	2.88	5.76	8.64		
% de las heces, BS	0.00	4.00	8.00	12.00		
MS de las heces %	24	24	24	24		
Producción de gas						
Total en 24 h, MI	152.50	128.50	72.50	47.00	1.266	< 0.001
Por g de heces BS, mL	12.66	10.64	6.00	3.90	0.104	< 0.001

† Error estándar de la media

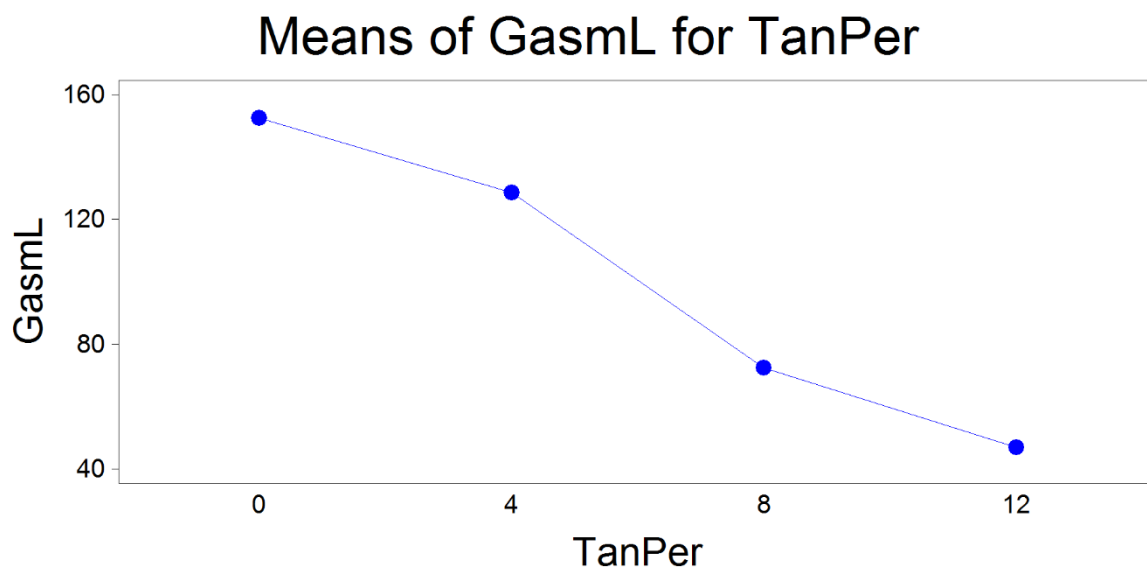


Figura 1. Descripción gráfica de la influencia del porcentaje de extracto de taninos en la producción de gas en las heces de bovinos.

La Figura 1. Muestra que los tratamientos tienen un comportamiento lineal, lo que significa que a mayor cantidad de extracto de taninos adicionados, hay menor producción de gas en las heces de bovinos en engorda.

Esta disminución se puede atribuir a la capacidad de los taninos para unirse a las proteínas de la membrana celular de las bacterias, cambiar su estructura y función, e inhibir su capacidad de unirse a las partículas de alimento y la fermentación de sus nutrientes (Bae *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1994; Cárdenas, 2012). La reducción en la cantidad de bacterias con capacidad para degradar los componentes de la materia orgánica se refleja como una disminución en la producción de gas (Dhanoa *et al.*, 2004).

Los estudios de Bae *et al.* (1993, Jones *et al.* (1994) y Cárdenas (2012) se han desarrollado con bacterias obtenidas del rumen, sin embargo es posible una comparación al utilizar inóculos a partir de las heces de rumiantes para realizar pruebas de producción de gas *in vitro* (Dhanoa *et al.*, 2004). Este resultado concuerda con lo observado en rumen por Carmona *et al.* (2005), Bernal *et al.* (2008) y Cárdenas (2012), quienes sugieren que la adición de taninos disminuye la producción de gas. Gilroyed *et al.* (2013) encontraron que con la adición de 2.5 % de TC en la dieta de bovinos en finalización se disminuyó la producción de hidrógeno en las heces.

LITERATURA CITADA

- Adeola, O. 1999. Nutrient management procedures to enhance environmental conditions: An introduction. *J. Anim. Sci.* 77:427-429. AOAC.1995. Official Methods of Analysis (16 th Ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Archibeque, S.L., D.N. Miller, H.C. Freetly, and C.L. Ferrell. 2006. Feeding high-moisture corn instead of dry-rolled corn reduces odorous compound production in manure of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1767-1777.

Bae, H.D., T.A. McAllister, J. Yanke, K.J. Cheng, and A.D. Muir. 1993. Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Applied and Environmental Microbiology*. 59:2132-2138.

Bernal, L., P. Avila, G. Ramírez, C.E. Lascano, T. Tiemann y H. Hess. 2008. Degradación de nutrientes y emisión de gases al fermentar ensilaje y heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* en el Sistema Rusitec. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. 16:199-204.

Bernal, L., R.A. Suárez. 2011. La producción de forraje en el contexto del cambio climático. *Rev. Cienc. Anim.* 4:7-14.

Cárdenas, P. A. 2012. Efectos de los taninos encontrados en las leguminosas tropicales utilizadas en la nutrición de rumiantes. *Revista PECUS Colombia*. 3:33-39. Disponible en: <http://www.corhuila.edu.com>

Cárdenas, P. A. 2012. Efectos de los taninos encontrados en las leguminosas tropicales utilizadas en la nutrición de rumiantes. *Revista PECUS Colombia*. 3:33-39. Disponible en: <http://www.corhuila.edu.co>

Carmona, J. C., D.M. Bolívar y L .A. Giraldo. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18:49-63.

Dhanao, M.S., J. France, L.A. Crompton, R.M. Mauricio, E. Kebreab, J.A.N. Mills, R. Sanderson, J. Dijkstra, and S. López. 2004. The technical note: A proposed method to determine the extent of degradation of a feed in the rumen from the degradation profile obtained with the in vitro gas production technique using feces as the inoculum. *J. Anim. Sci.* 82:733-746.

FASS, 2010. *Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching*. Federation of Animal Science Societies. Champaign, IL.

Gilroyed, B. H., C. Li, T. Reuter, K. A. Bauchemin, X. Hao, and T. A. McAllister. 2013. Influence of distiller's grains and condensed tannins in the diet of feedlot cattle on biohydrogen production from cattle manure. *International Journal of Hydrogen Energy*, 40:6050-6058.

Hess, H.D., L.M. Monsalve, C.E. Lascano, J.E. Díaz, T.E. y M. Kreuzer. 2003. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on in vitro ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*. 54:703-713.

Hicks, C.R. 1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Reinhart and Wiston, New York.

INEGI, 2000. *Anuario Estadístico del Estado de Sinaloa*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. Aguascalientes, Ags. México.

INEGI, 2009. *Anuario Estadístico del Estado de Sinaloa*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. Aguascalientes, Ags. México.

IPCC. 1996. *Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories: Reference Manual*.

Jones, G.A., T.A. McAllister, A.D. Muir, and K.J. Cheng. 1994. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 60:1374-1378.

Kern, D.L., L.L. Slyter, and E.C. Leffel. 1974. Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal digesta. *J. Anim. Sci.* 38:559-564.

Lascano, C., E. Cárdenas. 2010. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *R. Bras. Zootec.* 39:175-182.

Lascano, C., E. Cárdenas. 2010. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *R. Bras. Zootec.* 39:175-182.

- Lopez, S., F.M. McIntosh, R.J. Wallace and C.J. Newbold. 1999. Effect of adding acetogenic bacteria on methane production by mixed rumen microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*. 78:1-9.
- Mahecha, L. 2002. El silvopastoreo: una alternativa de producción que disminuye el impacto ambiental de la ganadería bovina. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 15:226-231.
- McAllister, T.A., C.J. Newbold. 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48:7-13.
- McAllister, T.A., H.D. Bae, G.A. Jones, and K.J. Cheng. 1994. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J. Anim. Sci.* 72:3004-3018.
- Miller, D. N. and V. H. Varel. 2001. In vitro study of the biochemical origin and production limits of odorous compounds in cattle feedlots. *J. Anim. Sci.* 79:2949-2956.
- Miller, D. N., E. D. Berry, J. E. Wells, C. L. Ferrell, S. L. Archibeque, and H. C. Freetly. 2006. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. III. Odorous compound production. *J. Anim. Sci.* 84:2533-2545.
- Montenegro, J., S. Abarca. 2000. Fijación de carbono, emisión de metano y de óxido nitroso en sistemas de producción bovina en Costa Rica. *Intensificación de la ganadería en Centroamérica: Beneficios económicos y ambientales*. Cap. 10. Ed: Pomareda C. y Steinfeld, H. CATIE, FAO, SIDE. Pag. 151-171.
- Montenegro, J., S. Abarca. 2002. Los sistemas silvopastoriles y el calentamiento global: un balance de emisiones. *Agronomía Costarricense*. 26:17-24.
- Murillo, E.X., R. Barajas, N. Castro, E.A. Velázquez. 2013. Influencia de la adición de extracto de taninos en la producción de gas *in vitro* de las heces de bovinos en engorda. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- Nogueira, S.C. 2011. Suplementación con mezcla comercial de taninos de quebracho y castaños en vacas lecheras. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina (fecha de consulta Octubre de 2012). <http://bibliotecadigital.uca.ar/respiratorio/tesis/suplementacion-mezcla-comercial-taninos-quebracho.pdf>.
- Otero, M.J., Hidalgo, L. G. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una revisión). *Livestock Research for Rural Development*. 16:1-22.
- Vázquez, A.A., E. Álvarez, J.A. López, A. Wall y L.A. De la rosa. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*.6:84-93.

PREVALENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE CONTUSIONES EN LA CANAL DE BOVINOS SACRIFICADOS EN UN RASTRO DE CULIACÁN, SINALOA

Briseyda Jatzel Félix Leyva¹, Horacio Dávila Ramos¹, Juan Carlos Robles Estrada¹, Francisco Gerardo Ríos Rincón¹, José Adrián Félix Beltrán¹.

Maestría en Ciencias Agropecuarias

¹Universidad Autónoma de Sinaloa

leebris@gmail.com

RESUMEN

Las contusiones tienen un impacto negativo sobre la calidad de la carne y es un indicador de un pobre bienestar animal. Estas reflejan fallas en prácticas de manejo, diseño incorrecto de instalaciones y falta de capacitación del personal. El objetivo de la presente investigación fue determinar la prevalencia y caracterización de las contusiones en las canales bovinas en una planta de sacrificio en Culiacán, Sinaloa. Se realizó un estudio observacional de tipo transversal, las visitas se realizaron en diciembre de 2017 a marzo de 2018, donde se observaron de forma aleatoria 1,167 canales, se valoraron y cuantificaron las contusiones por área anatómica, grado, tamaño, color y forma. La prevalencia fue de 87.9 %, donde el lado derecho de la canal presentó 72.3%; el 63.8% presentó forma moteada, 82.3% color rojo brillante, 72.8% tamaño pequeño y el 84% tuvieron grado de severidad 1. Nuestros resultados sugieren que existen problemas serios de manejo que afectan el bienestar animal, la cantidad y calidad de la carne, donde, la etapa de pre-sacrificio es donde se infringen la mayor parte de las contusiones, siendo el manejo del ganado un punto crítico en este proceso.

Palabras claves: contusiones, canales, bovino, bienestar animal.

ABSTRACT

Bruises have a negative impact on the quality of the meat and are an indicator of poor animal welfare. These reflect failures in management practices, incorrect design of facilities and lack of personnel training. The objective was to determine the prevalence and characterization of bruises in bovine carcasses in a slaughter plant in Culiacán, Sinaloa. An observational cross-sectional study was conducted, visits were made in December 2017 to March 2018, where 1167 channels were randomly observed, bruises were assessed and quantified by anatomical area, grade, size, color and shape. The prevalence was 87.9%, where the right side of the carcass presented 72.3%; 63.8% had a mottled shape, 82.3% bright red, 72.8% small size and 84% had a degree of severity 1. Results suggest that there are a serious management problem that affects animal welfare, the quantity and quality of meat, where, the pre-slaughter stage is where most bruises are infringed, with cattle management being a critical point in this process.

Keywords: bruises, carcass, cattle, animal welfare.

INTRODUCCIÓN

Por definición, una contusión es una lesión traumática con ruptura de los vasos sanguíneos, acumulación de sangre y suero, pero sin discontinuidad cutánea (Hoffman *et al.*, 1998); los traumatismos producidos son detectables una vez sacrificados y visibles únicamente en la canal de bovino (Strappini *et al.*, 2009). A pesar de todos los avances tecnológicos y modernización de los procesos en las plantas de sacrificio en los últimos años, la prevalencia de contusiones en la canal bovina, su posterior decomisos y recortes por esta causa, continúa sucediendo en gran medida; esto se debe a problemas en el transporte de los animales, instalaciones inadecuadas en las unidades de producción, falta de capacitación de los operarios, errores en el manejo de los animales y a las características propias del bovino (Strappini, 2012b); todos estos inconvenientes repercuten en elevadas prevalencias de contusiones no permisibles para el bienestar animal; al respecto, recientemente se ha informado que la frecuencia de contusiones observadas en los Estados Unidos de Norteamérica fue del 55.2% (Youngers *et al.*, 2017). Estudios realizados en Sudamérica indican una alta prevalencia de contusiones en las canales de bovinos, en Uruguay se encontró valores entre 44.4 y 60% (Huertas *et al.*, 2010; Huertas *et al.*, 2015; Crosi *et al.*, 2015); en Brasil, 38.7 al 89.06% (Andrade *et al.*, 2008; Da Silva *et al.*, 2014); en Colombia del 37.5 al 84.3% (Romero *et al.*, 2012; Romero *et al.*, 2013); en tanto que en Chile se ha informado de una prevalencia del 20.8 % al 92.2% (Strappini, *et al.*, 2010; Strappini *et al.*, 2011; Strappini *et al.*, 2012a). En el continente africano se observó una prevalencia del 31% en Ghana (Frimpong *et al.*, 2014), 31% (Hoffman y Lühl, 2012) y 72.3% (Mpakama *et al.*, 2014) en Namibia. En estudios realizados en México se han observado prevalencias del 54.7 al 92% (Miranda de la Lama *et al.*, 2012; Borjón, 2013; Sánchez-Pérez *et al.*, 2017). De tal manera, que se observa en estos estudios, prevalencias de contusiones elevadas, situación que se agranda por el hecho de que las canales lesionadas requieren un recorte excesivo, por lo tanto, se reducen los beneficios económicos en la industria de la carne (Youngers *et al.*, 2017), además la carne contusa tiene una vida de anaquel más corta, debido a que se descompone más rápidamente, pues la carne con sangre es un medio ideal para el crecimiento bacteriano (Strappini, 2012a). Las pérdidas por contusiones son de alto impacto económico, debido a que la mayor prevalencia de lesiones se encuentran en las regiones de cortes cárnicos de mayor valor para el mercado (Suoza *et al.*, 2016).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad existe preocupación de la ciudadanía por la calidad de la carne consumida, así como del trato que reciben los animales de producción, sin embargo, para que estos aspectos sean óptimos existe un largo camino que recorrer desde el trato dado desde el lugar de procedencia del ganado, el transporte hasta la planta procesadora de carne, su sacrificio y finalmente el destino dado a las canales; en este recorrido pueden ocurrir problemas de manejo, que generan estrés, fracturas, y principalmente contusiones en los animales, las cuales por tratarse del resultado de golpes causan sentimientos desagradables, como el dolor mientras están vivos y después del sacrificio, estas contusiones ocasionan pérdidas económicas considerables en las canales, al ser retiradas las partes afectadas, dependiendo la gravedad de la lesión (Santos, 2009). Además, la presencia de canales con contusiones es un

limitante de calidad para exportación, pues revela un manejo inadecuado en el bovino, así como malas instalaciones (Sepúlveda *et al.*, 2007; Strappini *et al.*, 2012a), situación que lo convierte en un importante indicador indirecto de bienestar animal (Crosi *et al.*, 2015). A nivel regional, a pesar que el estado de Sinaloa ocupa el quinto lugar en la producción de carne de bovino en México (SIAP, 2018), no existe documentos primarios donde se evalué de forma sistemática la prevalencia y caracterización de las contusiones en las canales bovinas, por lo que es necesario tomar en cuenta los efectos del mal manejo en los procesos previos al sacrificio con el propósito de tomar medidas para reducir estas pérdidas.

HIPÓTESIS

La prevalencia de contusiones en las canales de bovinos sacrificados en los rastros Tipo Inspección Federal de Culiacán, Sinaloa, es igual o superior al 70%.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia y caracterización de contusiones en la canal de bovinos sacrificados en rastro Tipo Inspección Federal en Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la prevalencia de contusiones en la canal de bovinos sacrificados en un rastro Tipo Inspección Federal en Culiacán, Sinaloa.
2. Caracterizar las contusiones en la canal de bovinos sacrificados en un rastro Tipo Inspección Federal en Culiacán, Sinaloa.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de una planta Tipo Inspección Federal (TIF) certificada para exportación de carne bovina. La planta está ubicada en el municipio de Culiacán, Sinaloa, México (107°27'46" LO y 24°43'14"LN), y esta cumple con los requisitos de las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-008-ZOO-1994; NOM-009-ZOO-1994; NOM-033-ZOO-1995). Con un sacrificio mensual de aproximadamente 5000 cabezas (SAGARPA, 2016).

Se realizaron diez visitas a la planta de sacrificio durante los meses de diciembre de 2017 a marzo de 2018 con un total de 27 lotes. La capacidad de sacrificio de la planta es de aproximadamente 40 animales por hora o 350 a 400 animales por día.

Valoración de las contusiones en las canales

Para la determinación de la prevalencia y características de las contusiones se observaron 1167 canales. Para el registro y clasificación de las contusiones se utilizaron diagramas impresos con el dibujo de una canal adaptada de Hoffman y Lühl (2012), donde visualmente la canal se dividió en 3 planos (derecho, centro e izquierdo), a su vez, en nueve regiones cada media canal: 1. pierna, 2. área del sirloin, 3. área del lomo plano, 4. área del rib-eye, 5. costillar, 6. hombro, 7. mano, 8. cuello, 9. falda y 10. cola.

El evaluador se posicionó en la línea de sacrificio, en un lugar que se ubica inmediatamente después de la estación de eviscerado, teniendo al animal de frente colgado de los miembros posteriores a una distancia de un metro aproximadamente, se analizó detenidamente la canal desde la zona caudal hacia craneal, de derecha a izquierda y se procedió a registrar las contusiones. Se registró el número de la canal, sitio anatómico (1 al 10), color (rojo brillante (RB), rojo oscuro (RO), amarillo (AM) (Hoffman y Lühl, 2012); forma (lineal (LI), vías de tren (TR), circular (CI), moteada (MO), irregular (IR); tamaño (C (2-8 cm), M (8-16 cm) y G (> 16 cm) (Strappini *et al.*, 2011) y grado de severidad (afectación del tejido subcutáneo (1), tejido muscular (2) y tejido óseo (3) INN, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 1167 canales de bovino evaluadas, el 88.7% (1036 canales) presentaron algún tipo de contusión, resultado similar a los obtenidos por Romero *et al.* (2011) y da Silva *et al.* (2014), quienes obtuvieron una prevalencia de 84.3 % y 89.06% respectivamente. Sin embargo, es inferior al encontrado por Miranda de la Lama *et al.* (2012) y Huertas *et al.* (2018) quienes obtuvieron una prevalencia del 92% y 90.5%. Y a su vez son superiores a los de Huertas *et al.* (2015) y Crosi *et al.* (2015) quienes mostraron una prevalencia de 60% y 44.4% respectivamente, en las cuales, las plantas de sacrificio contaban con programas de capacitación.

Los porcentajes de contusiones de las canales fueron mayores en lado derecho de la canal (72.30%), seguido por el centro (61.68%), y el lado izquierdo (58.01%), como se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1. Distribución de las contusiones en las canales por planos anatómicos.

De 1036	Lado de la canal	Número de contusiones por canal							las
		Sin contusión	Contusas (%)	1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 12	13- 21	
	Derecho	420	747 (64.0)	575	139	18	11	4	
	Centro	532	635 (54.4)	583	52	0	0	0	
	Izquierdo	568	599 (51.3)	552	45	2	0	0	

canales contusas, el lado derecho de las canales fue el más afectado(64%).Resultado similar al de Marshall (1977) donde el lado derecho de la canal presentaba mayor prevalencia de contusiones.Situación que puede deberse al diseño de los pasillos y mangas en la planta de sacrificio, los instrumentos de arreo que utilizan los operarios, y los resultados obtenidos en el cuadro 1, se podría inferir que la aparición de la mayoría de las contusiones está directamente

relacionado con el mal manejo por parte de los operarios, ya que durante la movilización en las mangas, los bovinos quedan expuestos al manejo del lado derecho y centro.

Cuadro 2. Caracterización de contusiones en las canales bovinas.

Variable	Sin contusión	Contusas (%)	Número de contusiones por canal				
			1 - 3	4 - 6	7 - 9	10 - 12	13-21
Color							
Rojo brillante	207	960 (82.3)	575	250	88	33	14
Rojo oscuro	861	306 (26.2)	273	27	6	0	0
Amarillento	1113	54 (4.6)	54	0	0	0	0
Forma de la contusión							
Moteada	434	733 (63.8)	583	117	25	6	2
Irregular	860	307 (26.3)	291	12	3	0	1
Lineal	1126	41 (3.5)	40	1	0	0	0
Circular	588	579 (49.6)	392	144	30	10	3
Vías de tren	1148	19 (1.6)	19	0	0	0	0
Tamaño de la contusión							
Pequeña (≥ 2 y ≤ 8 cm)	318	849 (72.8)	557	199	67	19	7
Mediana (> 8 y ≤ 16 cm)	638	529 (45.3)	484	41	4	0	0
Grande (> 16 cm)	895	272 (23.3)	264	8	0	0	0
Grado de la contusión							
1	187	980 (84.0)	553	283	101	25	18
2	934	233 (20.0)	220	12	1	0	0
3	1166	1					
Generalizada	1155	12 (1.03)					

Con relación al color, el rojo brillante obtuvo la frecuencia mayor (82.3%). Resultado similar al presentado por Strappini *et al.* (2012), quienes obtuvieron que la mayoría de las contusiones (70.3%) fueron de color rojo brillante. Gracey y Collins (1992) indican que las contusiones rojo brillante tienen una edad <10 h, correspondiendo al tiempo de permanencia de los bovinos en la planta de sacrificio.

En tanto a la forma, el 63.8% de las canales presentaron contusiones moteadas. Difiere con los resultados de Strappini *et al.* (2012) quienes encontraron mayor prevalencia en contusiones de forma irregular (91,1%).

Con relación al tamaño, las de mayor presentación fueron de tamaño pequeño (72.8%), de las cuales el 65.61% de las canales presentaron de 1 a 3 contusiones, y el 2.24% de 10 a 12 contusiones. Resultados similares a los de Strappini *et al.* (2012), donde el 60.4% de las contusiones fueron de tamaño pequeño. Sin embargo difieren con los resultados de Miranda de la Lama *et al.* (2012) donde el 72% fueron tamaño mediano y 23% de tamaño pequeño y los de Romero *et al.* (2011) quienes tuvieron la frecuencia mayor en contusiones de tamaño mediano (53.7%).

En cuanto a grado de severidad el valor más alto le corresponde al grado 1 (84%), seguida por el grado 2 (20%). Resultados similares a los encontrados por Crosi *et al.* (2015) con 83.9 % lesiones eran grado 1 y 16.1% grado 2. Sin embargo son inferiores a los encontrados por Romero *et al.* (2011), con una frecuencia de 97.1%.

CONCLUSIÓN

La prevalencia de contusiones observado en el periodo de estudio fue del 88.7%. Mostrando un valor muy elevado en cuanto a presencia de lesiones en la canal, debido a que la presencia de contusiones en las canales bovinas, además de disminuir su vida de anaquel y precio final, refleja un deficiente bienestar animal ante-mortem. De acuerdo a la caracterización de las contusiones, se podría inferir que fueron ocasionadas por un mal manejo por parte de los operarios de la planta de sacrificio.

Por lo tanto es necesario que tanto las autoridades como el personal de las empresas involucradas en la cadena de valor de la carne tomen conciencia de la importancia que tiene la mejora de las instalaciones de la planta de sacrificio, la formación de su personal y aplicación de normas correctas de manejo animal, a fin de evitar la presencia de contusiones.

LITERATURA CITADA

Andrade, E. D., Silva, R. A. M. S., & Roça, R. D. O. 2009. Manejo pré-abate de bovinos de corte no pantanal, Brasil. Archivos de zootecnia, 58(222), 301-304. ISSN 1885-4494; <http://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v58n222/art18.pdf>

Borjón Félix., J.R. 2013. Valoración de indicadores de bienestar animal durante el proceso de sacrificio de bovinos. (Universidad Autónoma de Sinaloa, 2013).

Crosi G., Prado, M., Huertas S., Imelio J., Piaggio J., Gil A.2015. Estudio observacional sobre presencia y caracterización de hematomas en carcasas vacunas de Uruguay. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 2015:3(2), 41-50. ISSN: 2312-3907; DOI: 10.20453/stv.v3i2.2824.

Da Silva B., Bueno M., Carla H., Ribeiro H., de K. y Giaretta N. 2014. Quantity, Location, and Description of Bruises in Beef Cattle Slaughtered under Sanitary Inspection. *Acta Scientiae Veterinariae*. 42 (1): 1-6. ISSN: 1679-9216; <https://www.redalyc.org/html/2890/289029240022/>

Folitse R., Owusu A., Amemor E., Opoku-Agyemang T. W., Emikpe B. 2017. Preliminary Study of Bovine Carcass Bruises and Its Associated Financial Losses in Kumasi Abattoir, Ghana. *Animal Research International*, 14(142), pp. 2715–2719. ISSN: 1597 – 3115; <https://www.zoounn.org/index.php/ARI/article/view/530/0>

Frimpong S., Gebresenbet G., Bobobee E., Aklaku E.D., Hamdu I. Effect of Transportation and Pre-Slaughter Handling on Welfare and Meat Quality of Cattle: Case Study of Kumasi Abattoir, Ghana. 2014. *Vet. Sci.*, 1, 174-191. ISSN 2306-7381; DOI: 10.3390/vetsci1030174

Gracey J.F y Collins D.S. 1992 *Meat hygiene* (9th edn.), Bailliere Tindall, London, UK (1992), pp. 96-128. ISBN: 0702014958

Hoffman L.C., Spire M.E., Schwenke J.R., Unruh J.A. 1998. Effect of source of cattle and distance trans- ported to a commercial slaughter facility on carcass bruises in mature beef cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212, 668–672. ISSN: 0003-1488

Hoffman L.C. y Lühl J. 2012. Causes of cattle bruising during handling and transport in Namibia. *Meat Sci.* 2012 Oct;92(2):115-24. ISSN: 0309-1740; DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.04.021

Huertas S. M., van Eerdenburg F., Gil A., Piaggio G. 2015. Prevalence of carcass bruises as an indicator of welfare in beef cattle and the relation to the economic impact. *Veterinary Medicine and Science*. 1(1), pp. 9–15. ISSN: 2053-1095; DOI: 10.1002/vms3.2

Huertas S.M. Gil, A.D., Piaggio J.M., Van Eerdenburg F. J C M. 2010. Transportation of beef cattle to slaughterhouses and how this relates to animal welfare and carcass bruising in an extensive production system. *Animal Welfare*. 19(3), pp. 281–285. ISSN: 0962-7286; <https://pdfs.semanticscholar.org/1f70/20f2d13145dc40d38b161a1ce0582fda9afe.pdf>

Huertas S.M. 2012. Buenas prácticas de manejo durante el embarque y transporte a la planta de sacrificio. *Bienestar animal: Productividad y calidad de la carne* (eds. D Mota-Rojas, S. & Huertas, I. G. and M. T.) 139–153. ISBN: 978-607-504-013-4

Huertas, S., Kempener, R., & van Eerdenburg, F. 2018. Relationship between Methods of Loading and Unloading, Carcass Bruising, and Animal Welfare in the Transportation of

Extensively Reared Beef Cattle. *Animals*, 8(7), 119. ISSN: 2076-2615; DOI: 10.3390/ani8070119

Marshall, B. L. 1977. Bruising in cattle presented for slaughter. *New Zealand veterinary journal* 25.4 (1977): 83-86. ISSN: 1176-0710; DOI: 10.1080/00480169.1977.34367

Miranda-de la Lama G.C., Leyva I.G., Barreras-Serrano A., Pérez-Linares C., Sánchez-López E., María G.A., Figueroa-Saavedra F. 2012. Assessment of cattle welfare at a commercial slaughter plant in the northwest of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 497-504. ISSN: 0049-4747; DOI: 10.1007/s11250-011-9925-y

Mpakama T., Chulayo, A. Y., Muchenje V. 2014. Bruising in slaughter cattle and its relationship with creatine kinase levels and beef quality as affected by animal related factors. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(5), pp. 717–725. ISSN: 1011-2367 DOI: 10.5713/ajas.2013.13483

NOM-008-ZOO-1994. Especificaciones zoosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos, en aquellos puntos que resultaron procedentes. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203867/Mod_NOM-008-ZOO-994__10021999.pdf (Consulta, enero 2018).

NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne. http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203870/Mod_NOM-009-ZOO-1994_310707.pdf (Consulta, febrero 2019).

NOM-033-ZOO-1995. Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5405210&fecha=26/08/2015 (Consulta, febrero 2019).

Romero M.H. Gutierrez, C., Sanchez J.A. 2012. Evaluation of bruises as an animal welfare indicator during pre-slaughter of beef cattle. *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*, 25(2), pp. 267–275. ISSN: 0120-0690; http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902012000200012

Romero M.H., Uribe-Velásquez L.F., Sánchez J.A., Miranda-de la Lama G.C. 2013. Risk factors influencing bruising and high muscle pH in Colombian cattle carcasses due to transport and pre-slaughter operations. *Meat Science* 95 256–263. ISSN: 0309-1740; DOI: 10.1016 / j.meatsci.2013.05.014

Sánchez-Pérez J.N., Ríos-Rincón F.G. Leyva-Medina K.H., Robles-Estrada J.C., Portillo-Loera J. J. 2017. Prevalence and characteristics of bruises of beef cattle carcasses from two regions

of northwest Mexico. *J. Animal Science* 95:13. ISSN: 1525-3163; DOI: 10.2527 /
asasann.2017.025

SIAP. 2018. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria> (Consulta,
marzo 2019)

Strappini, A.C., Metz, J. H. M., Gallo, C. B., Kemp, B. 2009. Origin and assessment of bruises in
beef cattle at slaughter. *Animal*, 3(5), 728–736.

Strappini A.C., Frankena K., Metz J. H. M., Gallo C., Kemp B. 2011. Characteristics of bruises in
carcasses of cows sourced from farms or from livestock markets. *Animal*, 6:3, pp 502–509.
ISSN: 1751-7311; DOI: 10.1017/S1751731109004091

Strappini A.C., Metz J.H.M., Gallo C., Frankena K., Vargas R., de Freslon I., Kemp, B. 2012a.
Bruises in Chilean cattle: Their characterization, occurrence and relation with pre-slaughter
conditions. *Animal*, 7:3, pp 485–491. ISSN: 0309-1740; DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.07.010

Strappini A. 2012b. Problemas y errores comunes encontrados en Chile durante el manejo del
ganado. *Bienestar animal: Productividad y calidad de la carne*. (Eds. D Mota-Rojas, S. &
Huertas, I. G. and M. T.) 139–153. ISBN: 978-607-504-013-4

Suoza S.A., Rossi J.P., Fragoso M.F. 2016. Perdas ocasionadas por lesões em carcaças
bovinas e seu reflexo econômico no estado do Paraná. *Introdução a pecuária bovina brasileira*
tem mostrado impor, pp. 119–130. ISSN: 1517-784X; DOI: 10.5380/avs.v21i3.45372

Youngers M.E. Thomson D. U. Schwandt E.F., Simroth J.C., Bartle S.J., Siemens M.G.,
Reinhard C.D. 2017. Case Study : Prevalence of horns and bruising in feedlot cattle at slaughter.
Prof. Anim. Sci. 33, 135–139. ISSN: 1080-7446; DOI: 10.15232/pas.2016-01551

CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE *Fusarium* spp. CAUSANTE DE LA MALFORMACIÓN EN MANGO (*Mangifera indica* L.) EN SINALOA

Lorena Molina Cárdenas¹, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz², Carlos Alfonso López Orona², Sixto Velarde Félix³, Felipe Ayala Tafoya², Guadalupe Alfonso López Urquidez²

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio en Ciencias Agropecuarias, Facultad de agronomía,

Universidad Autónoma de Sinaloa.

anerol-2022@hotmail.com.²

Doctor e investigador (FA-UAS).³

Investigador del Campo Experimental Valle de Culiacán-INIFAP.

El mango es uno de los principales frutales cultivados en México, el estado de Sinaloa ocupa el segundo lugar en superficie y producción. Sin embargo dicha producción se ve afectada por enfermedades del hongo *Fusarium* spp. que ocasionan la malformación del mango. La hipótesis de este trabajo es que se encontrará diferenciación genotípica entre las poblaciones de *Fusarium* spp. causante de la malformación en mango en Sinaloa. Por ello objetivo es caracterizar genotípicamente las especies de *Fusarium*. En el periodo 2017-2018, se colectaron muestras con síntomas de malformación, en tres regiones de Sinaloa con la finalidad de aislar al patógeno, a partir de pequeñas porciones de muestras, los cuales fueron sembrados en medio PDA suplementado con PCNB y cloranfenicol a 25 °C durante cinco días, se llevaron a cabo diluciones seriadas para obtener los cultivos monospóricos, los cuales se identificaron mediante características morfológicas. Se obtuvieron un total de 168 cepas correspondientes a *Fusarium* spp. se realizaron los postulados de Koch, para evaluar la patogenicidad de las cepas en plantas de mango de dos meses de edad, en condiciones de invernadero, cinco repeticiones por cepa, la cantidad de inóculo fue 1×10^6 conidios por mL. Un 48 % de las cepas son patogénicas hasta el momento, a dichas cepas se les extraerá el ADN para caracterización genotípica, por medio de técnicas moleculares.

Palabras clave: mango, caracterización genotípica, malformación, *Fusarium* spp.

ABSTRACT

The mango is one of the main fruit trees grown in México, the state of Sinaloa occupies the second place in surface and production. However, this production is affected by diseases of the fungus *Fusarium* spp. that cause the malformation of the mango. The hypothesis of this work is that genotypic differentiation will be found between the populations of *Fusarium* spp. cause of malformation in mango in Sinaloa. Therefore, the objective is to characterize *Fusarium* species genotypically. In the period 2017-2018, samples with symptoms of malformation were collected in three regions of Sinaloa in order to isolate the pathogen, from small portions of samples, which were planted in PDA medium supplemented with PCNB and chloramphenicol at 25 °C, for five days, serial dilutions were carried out to obtain the monosporic cultures, which were identified by morphological characteristics. A total of 168 strains corresponding to *Fusarium* spp. the Koch postulates were carried out, to evaluate the pathogenicity of the strains in mango plants of two months of age, under greenhouse conditions, five repetitions per strain, the

inoculum quantity was 1×10^6 conidios per ml 48% of the strains are pathogenic so far, these strains will be extracted DNA for genotypic characterization, by means of molecular techniques.

Key words: mango, genotypic characterization, malformation, *Fusarium* spp.

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es el frutal de mayor importancia económica en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (FAO, 2012). En el año 2016 México ocupó el cuarto lugar a nivel mundial, en cuanto superficie sembrada y producción 206, 423 ha y 2, 197, 313 t, antecedido por India, China, Tailandia (FAO, 2017). En 2017 en México se sembró una superficie de 201, 423 ha y una producción de 1, 958, 132 t, el estado de Sinaloa se posicionó en el segundo lugar en cuanto a superficie y producción con 32, 271 ha y 370, 373 t solo por debajo de Chiapas y Guerrero respectivamente (SIAP, 2018).

Sin embargo dicha producción se ve afectada por un complejo de patógenos entre los que se encuentran principalmente a los hongos. En México y a nivel mundial a la enfermedad se le conoce con el nombre de malformación, “escoba de bruja” o proliferación vegetativa y/o floral (Aguilera *et al.*, 2003). Destacando su severidad, control ineficiente y que se presenta en la mayoría de las variedades cultivadas (Ploetz, 2007). Las inflorescencias marchitas provocan el contagio de la enfermedad a yemas sanas (Gamliel- Atinsky *et al.*, 2009). La enfermedad se registró por primera vez en India en 1891 (Krishnan *et al.*, 2009) y actualmente se encuentra distribuida en China, Australia, Bangladesh, Brasil, Burma, Centroamérica, Cuba, Egipto, Estados Unidos de América, Filipinas, India, Indonesia, Israel, Malasia, México, Pakistán, Sudan, Tailandia, Venezuela (Morales *et al.*, 2009; Castellano y Guanipa, 2004).

El principal agente causal reportado de la malformación es el hongo *Fusarium mangiferae* (Freeman *et al.*, 1999; Newman *et al.*, 2012; Bhavna *et al.*, 2014); aunque también es causada por un complejo de hongos del género *Fusarium*, como las especies: *Fusarium oxysporum* (Mora, 2000), *Fusarium decemcellulare* Brix. (Castellano y Guanipa, 2004), *Fusarium sterilihyphosum* (Britz *et al.*, 2002) y *Fusarium proliferatum* (Zhan *et al.*, 2010). En México, los patógenos que provocan la PVF son *F. subglutinans* y *F. oxysporum* en Michoacán, Guerrero y Morelos (Mora, 2000). En estudios recientes se identificaron a *Fusarium mexicanum* (Otero-Colina *et al.*, 2010; Betancurt *et al.*, 2012) y *Fusarium pseudocircinatum* (Freeman *et al.*, 2014) como agentes patógenos de la enfermedad.

Se han realizado estudios con base al manejo integrado de la PVF (Vega-Piña *et al.*, 2004), debido a que la producción se ha visto reducida hasta en 50% (Noriega-Cantú *et al.*, 1999).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desconoce evidencia científica de las especies de *Fusarium* que ocasionan la malformación y bajan el rendimiento en el cultivo de mango en Sinaloa, por tanto, es de importancia identificar y caracterizar las especies de *Fusarium* causantes de la malformación del cultivo del mango en el estado de Sinaloa, así como determinar la diversidad genotípica de *Fusarium*.

HIPÓTESIS

Se encontrará diferenciación genotípica entre las poblaciones de *Fusarium* spp. causante de la malformación en mango, de acuerdo a las condiciones ambientales y sistemas de producción bajo las que se desarrollan.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar genotípicamente a *Fusarium* spp. causante de la malformación en mango en Sinaloa, así, como determinar la diversidad, distribución y abundancia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar con base a las características morfológicas las especies de *Fusarium* causantes de la malformación en mango en Sinaloa.
- Realizar los postulados de Koch, para evaluar la patogenicidad de las cepas de *Fusarium* spp. causantes de la malformación del mango en Sinaloa.
- Identificar mediante técnicas moleculares, las especies de *Fusarium* que causan la malformación en el cultivo del mango en Sinaloa.
- Determinar la diversidad genotípica de las poblaciones de *Fusarium* spp. causantes de la malformación del mango en Sinaloa, mediante análisis filogenéticos con el gen TEF.
- Determinar la influencia en la distribución y abundancia de los genotipos de *Fusarium* spp. causantes de la malformación del mango en Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Colecta de muestras

Se tomaron muestras de la parte enferma del árbol (yemas vegetativas axilares, apicales e inflorescencias). Se envolvieron en periódico, se humedeció con agua destilada estéril y colocaron en bolsas ziploc, rotuladas con la identificación correspondiente (región, municipio, lote, número de muestra y fecha). Las muestras fueron llevadas al centro de investigación (laboratorio de fitoprotección), de la Facultad de Agronomía, para su análisis.

- Marco de muestreo

Se realizó un muestreo dirigido y se dividió a Sinaloa en tres regiones: zona norte (Ahome), zona centro (Culiacán y Navolato) y zona sur (El Rosario y Escuinapa).

Cuadro 1. Representación geográfica, condiciones de temperatura, precipitación y sistema de producción de los sitios de estudio.

Región	Estación	Latitud	Longitud	Altura (msn m)	Temp. media (°C)	Precipitación (mm)	Sistema
--------	----------	---------	----------	----------------	------------------	--------------------	---------

Norte	0002500 3 Ahome	25° 55' 08" N	109° 10' 20" O	10	25.6	435.3	Riego
Centro	0002501 5 Culiacán	24° 47' 31" N	107° 23' 53" O	60	25.7	666.1	Riego
	0002517 1 Navolato	24° 45' 56" N	107° 42' 11" O	16	25.4	469.7	Riego
Sur	0002507 8 El Rosario	22° 59' 31" N	105° 51' 41" O	32	25.7	913.7	Tempora l-riego
	0002504 9 Escuinap a	22° 31' 46" N	105° 27' 09" O	16	25.6	1,025.9	Tempora l-riego

- Siembra de muestras, aislamientos, cultivos monospóricos e identificación morfológica

De cada muestra colectada, se realizaron cortes pequeños longitudinales de 3 mm, que fueron desinfectados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 2 min y etanol al 70 % por 2 min, seguido de tres lavados con agua destilada estéril, sembrados en cajas Petri con medio PDA suplementado con PCNB y cloranfenicol, incubándose a 25 °C durante cinco días. Para obtener los cultivos monospóricos de *Fusarium spp*, se realizó mediante diluciones seriadas (Hansen y Smith, 1932). La identificación de las especies de *Fusarium* se llevó a cabo en un microscopio compuesto, con base a la morfología del micelio y microconidias en fiálides propuestas por Leslie y Summerell (2006).

- Postulados de Koch

Se inocularon plantas de dos meses de edad, haciendo una pequeña herida en el nudo con la ayuda de un bisturí estéril, para inyectar 20 µL de la suspensión conidial, se inyectaron cinco nudos por planta, usándose cinco plantas por cada cepa, al final de la inoculación se rosearon con agua destilada estéril y cubrieron con bolsas de plástico, retirándose al día siguiente (Freeman *et al.*, 1999).

- Evaluación de la patogenicidad de cepas de *Fusarium spp*. en plantas de mango

La severidad de la enfermedad se realizó mediante una escala de clasificación de 1 a 5, según lo descrito por Iqbal *et al.* (2006).

Clasificación 1: Hinchazón de la yema para malformaciones vegetativas y florales

Clasificación 2: Erupción de múltiples brotes (vegetativos) o raquis cortos y gruesos (florales)

Clasificación 3: Brotes agrupados/entrenados acortado (vegetativos) o pedúnculos engrosados (florales)

Clasificación 4: Pequeñas hojas escamosas (vegetativos) o flores agrandadas (florales)

Clasificación 5: Ápice bunchy (vegetativos) o panícula deformada compacta (florales)

- Extracción de ADN de los cultivos monospóricos

Las cepas que resulten patogénicas, se les extraerá el ADN, se empleará el método descrito por Velarde-Félix *et al.* (2013). El ADN extraído se resuspenderá en agua libre de nucleasas y almacenarán a 4 °C para su posterior uso y conservación.

- Amplificación mediante PCR del Gen TEF

El ADN extraído de las muestras correspondientes a *Fusarium* spp., serán amplificados mediante PCR (O'Donnell *et al.*, 1998; Geiser *et al.*, 2004).

- Análisis electroforético para la separación de productos amplificados

Los productos amplificados serán analizados en geles de agarosa al 1%, como referencia el marcador de peso molecular Hyper Ladder III. La solución amortiguadora de corrida y preparación de los geles de agarosa será NaOH-Borato 1X (Brody y Scott, 2004).

- Purificación y secuenciación de los productos amplificados

Para llevar a cabo la identificación mediante secuenciación enzimática, los productos amplificados de *Fusarium* se enviarán a MacroGen, Inc. en Korea del Sur. Sitio web www.macrogen.com.

- Análisis de la secuencia en el programa BLAST

La búsqueda de similitud entre secuencias de ADN se realizará por medio del programa BLAST (Altschult *et al.*, 1990), con el cual se compararán las secuencias de nucleótidos en estudio, con la base de datos del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), para identificar los valores de homología.

- Análisis de condiciones ambientales

Se tomaron datos de estaciones climatológicas más cercanas al muestreo: como temperatura y precipitación, lo cual servirá para determinar los factores que influyen en la distribución y abundancia de los genotipos de *Fusarium* spp. causantes de la malformación

- Análisis de datos.

Los ensayos de patogenicidad de las cepas de *Fusarium* spp. se realizó bajo un diseño al azar en bolsas negras (18 x 26 cm), se hicieron cinco repeticiones por tratamiento (cada repetición fue una planta de mango).

Para cumplir con el objetivo de distribución y abundancia se usarán programas estadísticos. La estructura poblacional se estudiará mediante el análisis de la frecuencia de alelos, heterocigosidad, distancia genética y diferenciación genética.

- Se realizará un análisis de componentes principales (PCA) con el software GENALEX (versión 6.5) para producir un mapa de la distribución de la diversidad genética a través del espacio geográfico. Así, como calcular la distancia genética entre los aislamientos de *Fusarium* spp.

RESULTADOS PREELIMINARES

- Colecta de muestras

Se colectaron un total de 184 muestras, de árboles con presencia de malformación.

- Marco del muestreo

El muestreo se dividió en tres regiones, que comprendió cinco municipios. Se muestrearon un total de 50 huertas de las cuales en el 86 % se encontró el daño característico de la enfermedad de la malformación.

- Siembra, aislamiento, cultivos monospóricos e identificación morfológica

Se realizó la siembra de las muestras colectadas, se aislaron y obtuvieron 184 cultivos monospóricos, de los cuales el 91 % se identificaron como *Fusarium*.

Cuadro 2. Huertas que fueron muestreadas y total de muestras colectadas correspondientes a *Fusarium* spp. por región (Norte, Centro y Sur) en Sinaloa.

Región	Municipio	Huertas	Muestras
Norte	Ahome	7	21
Centro	Culiacán-Navolato	9	24
Sur	El Rosario-Escuinapa	34	123
Total		50	168

- Postulados de Koch

Se realizaron los postulados de Koch, inoculándose las 168 cepas de *Fusarium* spp. en plantas de mango, se registraron que cepas fueron patogénicas, a su vez se mide los síntomas cada semana, desde que se observaron los primeros síntomas de la enfermedad.

Actualmente 84 cepas de *Fusarium* spp. inoculadas en las plantas de mango son patogénicas, de las cuales se ha logrado identificar mediante la morfología a varias especies de *Fusarium*.

Cuadro 3. Especies de *Fusarium* identificadas con base a características morfológicas, por región (Norte, Centro y Sur) en Sinaloa.

	Especies de <i>Fusarium</i>

Región	<i>F. decemcellulare</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. pseudocircinatum</i>	<i>F. sterilihyphosum</i>	<i>F. verticilloides</i>	<i>Fusarium</i> spp.
Norte	10	3	4	1	0	1
Centro	5	1	0	6	0	1
Sur	26	0	6	7	7	6
Total	41	4	10	14	7	8

CONCLUSIÓN

De acuerdo a la identificación morfológica, el 48 % de las cepas que son patogénicas corresponden a *Fusarium decemcellulare*.

LITERATURA CITADA

Aguilera A.M., Ortíz D.T., Aguilera G.M., García P.S., Mercado J.J. 2003. Progreso temporal de escoba de bruja (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21 (1): 1-12. ISSN: 0185-3309. https://www.researchgate.net/publication/237037418_Progreso_temporal_de_escoba_de_bruja_fusarium_oxysporum_y_f_subglutinans_en_huertos_de_mango_Mangifera_indica_L_cv_Haden_en_Michoacan_Mexico (Consulta, marzo 2019).

Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*. 215: 403-40. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80361-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80361-4) (Consulta, febrero 2019).

Betancourt R.I., Velázquez M.J.J., Montero C.J.C., Fernández P.S.P., Lozoya S.H., Rodríguez A.G. 2012. *Fusarium mexicanum* Agente Causal de la Malformación del Mango en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 30: 115-127. ISSN: 2007-8080. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v30n2/v30n2a2.pdf> (Consulta, enero 2019).

Bhavna J., Wahid A.M., Bains G., Chandra P.R., Shukla A., Tuteja N., Kumar J. 2014. *Fusarium mangiferae* associated with mango malformation in the Tarai region of the Uttarakhand state of India. *Plant Signal Behav*. 9: 1-3. ISSN: 1559-2324; DOI: 10.4161/psb.28715

Britz H., Steenkamp E.T., Coutinho T.A., Wingfield B.D., Marasas W.F. and Wingfield M.J. 2002. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. *Mycologia*. 94 (4): 722-730. ISSN: 00275514; DOI: 10.2307/3761722

Brody J. R., Scott E. K. 2004. Sodium boric acid: A tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. *Biotechniques*. 36 (2): 214-216. ISSN: 1940-9818; DOI: [10.2144/04362BM02](https://doi.org/10.2144/04362BM02)

- Castellano G., Guanipa N. 2004. Comportamiento de diez cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la inoculación con *Fusarium decemcellulare* Brix. *Revista de Facultad de Agronomía*. 21: 200-206. http://revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_2004/Castellano%20y%20Guanipa.pdf (Consulta, febrero, 2019).
- FAO. 2012. Estadísticas de producción por cultivo. www.fao.org/faostat/en/#data/QC (Consulta, octubre 2017).
- FAO. 2017. Estadísticas de producción por cultivo. www.fao.org/faostat/en/#data/QC (Consulta, diciembre 2017).
- Freeman S., Maimon M., and Pinkas Y. 1999. Use of GUS transformants of *Fusarium subglutinans* for determining etiology of mango malformation disease. *Phytopathology*. 89 (6): 456-461. ISSN: 0031-949X; DOI:10.1094/PHYTO.1999.89.6.456.
- Freeman S., Otero-Colina, G., Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S., Maymon, M. R., Ploetz, R. C., Aoki, T., O'Donnell K. 2014. First Report of Mango Malformation Disease Caused by *Fusarium pseudocircinatum* in Mexico. *Plant Disease*. 98 (11): 1583. ISSN: 0191-2917; DOI: 10.1094/PDIS-04-14-0375-PDN.
- Gamliel-Atinsky, E., Szejnberg, A., Maymon, M., Vintal, H., Shtienberg, D. y Freeman, S. 2009. Infection dynamics of *Fusarium mangiferae*, causal agent of mango malformation disease. *Phytopathology*. 99 (6): 775-81. ISSN: 0031-949X; DOI: 10.1007/s10493-009-9302-y
- Geiser D., Jiménez-Gasco M., Kang S., Makalowska I., Veeraraghavan N., Ward T.J., Zhang N., Kuldau G.A., O'Donnell K. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*. USA. 110: 473–479. ISSN: 1573-8469; DOI:10.1023/B:EJPP.0000032386.75915.a0
- Iqbal Z.M. Rehman A.A., Dasti A., Saleem., Zafar. 2006. RAPD analysis of *Fusarium* isolates causing mango malformation disease in Pakistan. *World J. Microbiology and Biotechnology*, 22: 1161-1167. ISSN: 1573-0972; DOI: 10.1007/s11274-006-9157-x.
- Hansen H. N., Smith. R. E. 1932. The mechanisms of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*. 22 (12): 369-371. ISSN: 0031-949X. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19331100619> (Consulta, marzo 2019).
- Krishnan A.G., Nailwal T.K., Shukla A. and Pant, R.C. 2009. Mango (*Mangifera indica* L) malformation an unsolved mystery. *Researcher*. 1 (5): 20-36. ISSN: 1553-9865. <http://www.sciencepub.net/researcher/0105/research0105.pdf#page=24> (Consulta, febrero 2019)
- Leslie J. F., Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Ltd. pp: 122-279. ISBN-13: 978-0-8138-1919-8. <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Yu3cBAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=The+Fusarium+Laboratory++Manual.+Blackwell+Publishing+Ltd.&ots=3K345ORiWr&sig=UQO->

[xF8Rs_A8fKIUkUSHLuobhFg#v=onepage&q=The%20Fusarium%20Laboratory%20%20Manual.%20Blackwell%20Publishing%20Ltd.&f=false](#) (Consulta, febrero 2019)

Mora A.J.A. 2000. Patogénesis y epidemiología de la " Escoba de bruja" *Fusarium subglutinans* (Wollemwed y Reinking) y *F. oxysporum* (Schlecht.) del mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán, México. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. México. 107p. ISSN: 2007-4018. [DOI: 0.5154/r.rchscfa.2014.08.033](#)

Morales R.V., Rodríguez, G. M. Micobiota endofítica asociada al cultivo del mango 'Haden' (*Mangifera indica* L.) en el oriente de Venezuela. 2009. Revista UDO Agrícola. 9 (2): 393-402. ISSN: 1317 – 9152. <http://www.bioline.org.br/pdf?cq09050> (Consulta, marzo 2019).

[Newman](#) Z.,S., [Freeman](#), Biton I., Saada D., Paz T., Maymon M., Lavi U. 2012. Molecular diagnosis of mango malformation disease and phylogeny of *Fusarium mangiferae*. *Phytoparasitica*. 40 (3): 287-297. ISSN: 1876-7184; DOI 10.1007/s12600-012-0224-6.

Noriega-Cantú D.H., Téliz D., Mora-Aguilera G., Rodríguez- Alcazar J., Zavaleta-Mejía E., Otero-Colina G., Campbell C.L. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, Mexico, with traditional and integrated management. *Plant Disease*. 83: 223-228. ISSN: 0191-2917; [DOI: 10.1094/PDIS.1999.83.3.223](#)

O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E., Ploetz R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA. 95: 2044-2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044> (Consulta, febrero 2019).

Otero-Colina G., Rodríguez-Alvarado G., Fernández-Pavía S., Maymon M., Ploetz R.C., Aoki T., Freeman S. 2010. Identification and characterization of a novel etiological agent of mango malformation disease in Mexico, *Fusarium mexicanum* sp. nov. *Phytopathology*. 100 (11): 1176-1184. ISSN: 0031-949X; DOI:10.1094/PHYTO-01-10-0029

Ploetz R.C. 2007. Diseases of tropical perennial crops: Challenging problems in diverse environments. *Plant Disease*. 91: 644-663. ISSN: 0191-2917; DOI: 10.1094/ PDIS-91-6-0644

SIAP 2018. Cierre de la producción agrícola por cultivo. www.siap.com.mx (Consulta, diciembre 2018).

Vega-Piña A., Téliz-Ortiz D., Mora-Aguilera G., Sánchez- García P., Otero-Colina G. 2004. Período de agobio hídrico, intensidad de poda y uso de agroquímicos en un programa de manejo integrado de escoba de bruja del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22: 61-71. ISSN: 2007-4034; DOI: [10.5154/r.rchsh.2003.08.047](#)

Velarde-Félix, S., Zamora-Galván F., Valdez-Rubio N., Cárdenas-Molina L., López-Molina, R., Angeles-Valdéz J.A., Fierros-Leyva G.A., Ortega-Murrieta P.F., Padilla-Valenzuela I., Gutiérrez-Pérez E. 2013. Distribución y presencia de la fusariosis del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el Noroeste de México y búsqueda de resistencia en condiciones controladas. En: Memoria Simposio Nacional de Garbanzo 2013. México. INIFAP, pp 54-64.

Zhan R.L., Yang S.J., Ho H.H., Liu F., Zhao Y.L., Chang J.M., He Y.B. 2010. Mango malformation disease in south China caused by *Fusarium proliferatum*. Journal of Phytopathology. 158: 721-725. ISSN: 1439-0434; DOI: 10.1111/j.1439-0434.2010.01688.x

MONITOREO DE METALES PESADOS EN EL OSTIÓN *Crassostrea corteziensis*, EN SISTEMAS LAGUNARES DEL CENTRO-NORTE DE SINALOA

Carlos Humberto Sepúlveda¹, Carmen Cristina Osuna Martínez², Andrés Martín Góngora Gómez³, Manuel García Ulloa Gómez³.

¹ Posgrado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar.
carlos.humberto.s.1994@gmail.com

² Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

³ Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

Existe un grupo de elementos conocido como “metales pesados” o “metales traza”, debido a sus densidades relativamente altas, generalmente igual o superior a 5 g/cm³ cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (Covarrubias y Peña-Cabriales, 2017). Bajo este nombre genérico se agrupan elementos como hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn), selenio (Se), cadmio (Cd), plomo (Pb) y mercurio (Hg), entre otros, los cuales se encuentran en el ambiente, debido a que forman parte de la corteza terrestre de manera natural en las rocas, suelos, sedimentos, erupciones volcánicas y agua, sin embargo, el aumento de sus concentraciones en el ecosistema se debe principalmente a la polución (Jara-Marini *et al.*, 2013). Los metales pesados son introducidos en los ecosistemas costeros principalmente por las fuentes atmosféricas, el transporte a través de los ríos, las aguas residuales y drenes agrícolas (Páez-Osuna y Osuna-Martínez, 2015). Numerosos estudios en las regiones costeras se han centrado en la contaminación por metales, ya que se considera una de las principales preocupaciones en alterar el equilibrio ecológico, debido a su vasta fuente, persistencia, bioacumulación, no degradabilidad y efectos tóxicos sobre la biota. Aunque se han propuesto diversas especies animales (moluscos, peces y crustáceos) y vegetales (microalgas, pastos marinos y mangles) para su biomonitoreo en zonas costeras; los moluscos bivalvos exhiben varios caracteres de organismos indicadores, tales como su ideal naturaleza sedentaria, elevada abundancia numérica y vida sésil, por lo anterior se consideran como los mejores bioindicadores para estudios de contaminación costera (Jonathan *et al.*, 2017). Desde los años setenta y hasta la actualidad un esquema a nivel internacional del uso de mejillones (principalmente las especies del género *Mytilus*; Rainbow, 1995) ha sido implementado para evaluar los niveles de contaminación de los océanos. Aunque los mejillones son eficientes acumuladores de varios metales, no muestran grandes cambios en las concentraciones de Zn y Cu acumulados en sus tejidos, por lo que son considerados como reguladores parciales de estos metales. Además, no son fáciles de identificar a nivel de especie, lo que puede dificultar los resultados del monitoreo. Los ostiones representan el segundo grupo de bivalvos más ampliamente utilizado como biomonitores, ya que tienen la ventaja de ser acumuladores de Zn y Cu (Frías-Espericueta *et al.*, 2008). El ostión de placer *C. corteziensis* pertenece a la familia Ostreidae (Rafinesque, 1815) y al género *Crassostrea* (Sacco, 1897) y como todos los integrantes, presenta un estadio larvario planctónico; posteriormente, vive como un organismo epibentónico sésil. Se distribuye en las zonas de manglar desde el Golfo de California, en México, hasta Perú, es una especie nativa del noroeste de México, donde es explotado tanto para la pesca como la acuicultura, principalmente en los estados de Nayarit, Sinaloa y Sonora,

ya que se considera uno de los ostiones de mayor importancia económica entre los ostréidos del Pacífico mexicano (Chávez-Villalba *et al.*, 2008). Sin embargo, se ha observado un estancamiento en su cosecha o extracción desde el año 2000 hasta 2013, con tendencia a disminuir (Mena-Alcántar *et al.*, 2017). Como se mencionó anteriormente, debido a las diversas actividades realizadas en las cuencas adyacentes a los sistemas lagunares, los contaminantes llegan a éstos y afectan a un gran número de organismos. La acumulación de metales pesados en la cavidad corporal de dicho ostión (durante el año 2010 en adelante), se ha utilizado para evaluar la calidad ambiental de varias lagunas costeras mexicanas (García-Rico *et al.*, 2010; Osuna-Martínez *et al.*, 2010 y 2011; Bergés-Tiznado *et al.*, 2013; Jara-Marini *et al.*, 2013; Delgado-Álvarez *et al.*, 2015; Páez-Osuna y Osuna-Martínez, 2015; Frías-Espericueta *et al.*, 2018;). Por lo tanto, *C. corteziensis* fue seleccionado para ser la principal especie cosmopolita asociada a raíces de mangle en once estaciones de cuatro sistemas lagunares de la costa centro-norte de Sinaloa, durante las temporadas de lluvias y de secas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Unos de los bancos más importantes de ostión de placer *C. corteziensis* se encuentran en los sistemas lagunares de la costa centro-norte de Sinaloa. Sin embargo, en el entorno de estos cuerpos de agua, se desarrollan actividades antropogénicas como agricultura intensiva, acuicultura, pesquerías, ganadería, urbanización, turismo y descargas fluviales y drenaje urbano, que representan fuentes potenciales de contaminantes, los cuales, se distribuyen en la columna del agua, los sedimentos y los organismos, (entre ellos, moluscos bivalvos). Debido al hábitat epibentónico sésil que ocupa y ha sus hábitos alimenticios por filtración, *C. corteziensis* puede bioacumular diversos contaminantes en sus tejidos, entre los cuales se encuentran los metales pesados, que cuando se acumulan por encima de los límites máximos permisibles, representan un riesgo potencial para la salud humana, por su consumo. Debido a la demanda comercial por el recurso “ostión de placer” y a la forma en que es consumido (fresco en su concha), es necesario realizar estudios acerca de la concentración de metales pesados (Fe, Cu, Zn, Se, Cd, Pb y Hg) que bioacumulan las poblaciones silvestres de este ostión en las costas centro-norte de Sinaloa, a fin de contribuir con una importante medida de prevención y manejo en la salud humana.

Por lo anterior, el problema de investigación se plantea mediante las siguientes interrogantes:

¿En cuál de los cuatro sistemas lagunares de la costa centro-norte de Sinaloa y en que temporada de muestreo (lluvias o secas) se registrará la mayor concentración de metales pesados en el tejido blando del ostión de placer?

¿Cómo se encuentran los niveles de estos organismos, respecto a los límites máximos permisibles, establecidos en las normas nacionales e internacionales?

¿Cuál es el riesgo (Rp) para los humanos, por consumo de estos organismos?

¿Cómo ha variado la concentración de metales en estos organismos, respecto a estudios realizados previamente en estos sistemas lagunares?

HIPÓTESIS

La concentración de los metales estudiados en el tejido blando de ostión de placer *C. corteziensis* es mayor en el sistema lagunar San Ignacio-Navachiste-Macapule durante las temporadas de lluvias.

Los niveles de metales en estos organismos serán relativamente altos, pero no superan los límites máximos permisibles que establecen las normas y el riesgo por su consumo es bajo.

OBJETIVO GENERAL

Monitorear la contaminación por metales pesados (Fe, Cu, Zn, Se, Cd, Pb y Hg), mediante el análisis del tejido blando de ostión de placer *C. corteziensis*, de cuatro sistemas lagunares de la costa centro-norte de Sinaloa, durante las épocas de lluvias y secas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar las concentraciones de Fe, Cu, Zn, Se, Cd, Pb y Hg mediante espectrofotometría de absorción atómica (flama, horno de grafito y generación de vapor en frío) en el tejido blando de especímenes de ostión de placer, recolectados en once sitios selectos de cuatro sistemas lagunares de la costa centro-norte de Sinaloa, durante las temporadas de lluvias y de secas.

Correlacionar la concentración de metales pesados con el índice de condición (IC) y las biometrías de *C. corteziensis*.

Determinar la relación existente entre los parámetros fisicoquímicos y biológicos del agua, con la concentración de los metales estudiados en el tejido blando del ostión de placer.

Evaluar el riesgo potencial para la salud humana, por el consumo de *C. corteziensis*, mediante el cálculo del nivel de exposición tóxico, el riesgo potencial por consumo y la tasa de consumo inocuo por día.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio, se incluyen cuatro de los diez sistemas lagunares del litoral sinaloense (Figura 1a, modificada de Páez-Osuna y Osuna-Martínez, 2015). Se llevarán a cabo dos campañas de muestreo, la primera del 01 a 04 de octubre (temporada de lluvias 2019) y la segunda del 01 a 04 de abril (temporada de secas 2020; Figura 1b).

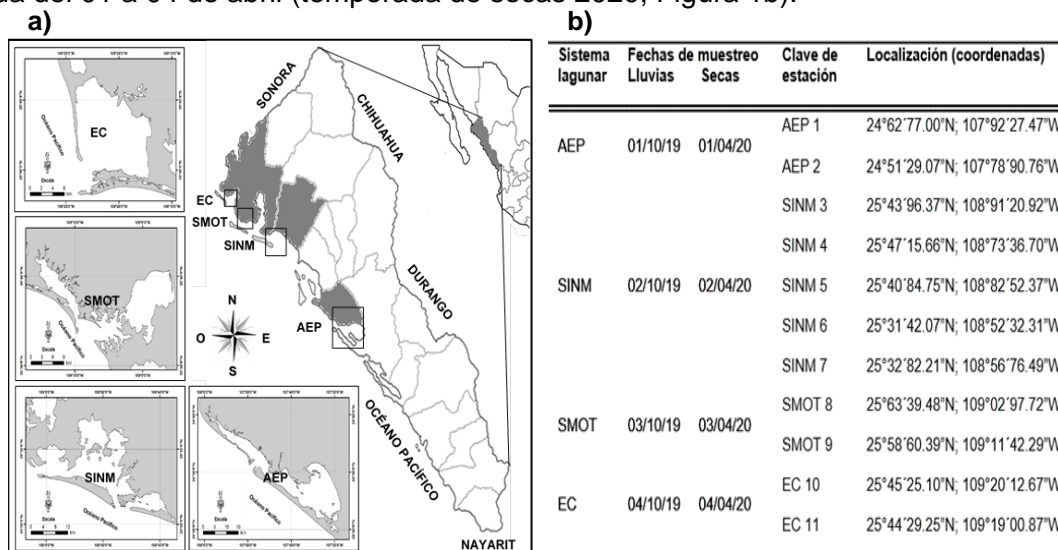


Figura 1.- a) Localización de los sistemas lagunares. Altata-Ensenada del Pabellón (AEP), San Ignacio-Navachiste-Macapule (SINM), Santa María-Ohuira-Topolobampo (SMOT) y El Colorado (EC). b) Localización de los sitios y fechas de muestreo.

Se recolectarán de forma manual muestras representativas de ostión de placer *C. corteziensis* de tallas dentro del intervalo de 40 a 70 mm de altura de la concha en las estaciones ($n = 11$) de las lagunas costeras seleccionadas. Del total de ostiones recolectados por estación y laguna ($n = 105$), 75 serán usados para el análisis de los metales pesados (tres réplicas de 25 individuos c/u) y 30 para obtener el índice de condición con el método de Walne y Mann (1975). Cada laguna costera, dependiendo el tamaño y los bancos de ostión de placer, será representada por un total de entre dos a cinco sitios de muestreo. Así mismo, en cada sitio se registrarán los parámetros fisicoquímicos (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, potencial de hidrógeno) y biológicos (clorofila *a*, sólidos suspendidos totales, materia orgánica y materia inorgánica) del agua y las coordenadas, mediante un equipo GPS portátil (Magellan Garmin Explorist 310). En el laboratorio de Malacología (IPN-CIIDIR, Sinaloa), las muestras se lavarán con agua corriente, cepillo y cuchillo para eliminar el exceso de sedimento, conchas adheridas, epifauna y restos de mangle. Luego se dejarán en depuración durante 24 horas para eliminar la contaminación potencial proveniente de su tracto intestinal. Las biometrías correspondientes a *C. corteziensis* (longitud, altura, ancho de la concha y peso corporal) se obtendrán en los once sitios de muestreo durante las temporadas de lluvias y de secas, midiendo y pesando los ostiones ($n = 105$) respectivamente, con una regla Vernier digital (Mitutuyo, CD-8" CS) y una balanza granataria (OHAUS, Scout Pro SP 2001) (Jonathan *et al.*, 2017). Las muestras compuestas por

el tejido blando de cada grupo de 25 ostiones serán homogenizadas y se colocarán en bolsas de polietileno para su congelación a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un ultracongelador. Para garantizar que todo el material a utilizar en el análisis de metales pesados esté debidamente limpio y acondicionado, se utilizará el método de Moody y Lindstrom (1977).

En el Laboratorio de Estudios Ambientales (FACIMAR-UAS, Mazatlán), las muestras congeladas se liofilizarán a baja temperatura y alto vacío ($-53\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 133×10^{-3} mBar, respectivamente) durante tres días para retirar toda la humedad contenida en los tejidos. Se registrará nuevamente el peso, para poder obtener el contenido de humedad y convertir los resultados de peso seco a peso fresco. Finalizado el proceso de liofilización, se procederá al macerado y pulverización de los tejidos en un mortero de ágata. El siguiente paso será el cuarteado para una mejor homogenización y se pesará la cantidad de muestra a analizar (1 g por muestra) y se colocará en un vaso de precipitado de 300 mL. Luego se les añadirán los reactivos a las muestras de ostión (5 mL de HNO_3 , grado metales traza) y se dejarán reposar durante 24 horas en pre-digestión. Posteriormente, se colocarán en una plancha de calentamiento (acoplada con una cama de arena para homogenizar la temperatura) a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su digestión durante tres horas hasta finalizar la reacción oxidativa. Una vez que las muestras sean digeridas, se filtrarán para después, ajustar el volumen a 50 mL y vaciarlo en viales de polietileno. Las digestiones serán almacenadas a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un refrigerador hasta su análisis en el Laboratorio de Análisis y Monitoreo Ambiental (CIEMAD-IPN, CDMX). Previo al análisis de las muestras, se establecerán las curvas de calibración correspondientes para cada uno de los metales, así mismo se leerán blancos y el material de referencia 1566b para ostión, disponible en el National Research Council y se obtendrán los porcentajes de recuperación para asegurar la confiabilidad del análisis y calidad de los datos. La lectura de las muestras de Fe, Cu y Zn, se analizarán por espectrofotometría de absorción atómica con detección por flama (Perkin-Elmer, PinAAcle 900T), mientras que la cuantificación de Cd y Pb se realizará por horno de grafito, el Hg por medio de vapor frío (Perkin-Elmer, Analyst 100, acoplado MHS 15) y el Se se determinará con sistema de corrección por efecto Zeeman acoplado a horno de grafito, para su cuantificación, se preparará un modificador de matriz para obtener una mayor temperatura de cenizas y mejorar la señal del analito, adicionando 30 μL del mismo en cada atomización. El modificador se preparará a partir de 1 mL de solución de nitrato de paladio ($[\text{Pd}(\text{HNO}_3)_2]$; 10,000 mg Pd/L en HNO_3 al 15 %, Merck) y 100 μL de nitrato de magnesio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$; 10,000 mg/L, Merck), y 8.9 mL de agua acidificada (HNO_3 al 0.2 %). Todas las soluciones y/o diluciones de las muestras que se utilizarán para estos análisis se prepararán con agua acidificada.

Una vez obtenidos los datos, se realizarán pruebas estadísticas para determinar la normalidad (Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors o Shapiro-Wilks) y homocedasticidad (y, de esta forma, proceder a realizar las correspondientes pruebas paramétricas (t de Student, ANOVA, Pearson) o no paramétricas (Mann-Whitney, Kruskal-Wallis, Spearman) para determinar las diferencias significativas y posibles correlaciones.

Se realizarán análisis para evaluar el riesgo a la salud humana respecto a la exposición diaria de los metales estudiados, considerando el consumo de una ración diaria de ostión de 70 g para niños de 30 kg, y de 200 g para adultos de 50, 60, 70, 80, 90 y 100 kg. Se calcularán los niveles de exposición ($E_m = \text{mg/kg/día}$) a los metales pesados por medio de la fórmula

(USEPA, 1986): **Em = [metal] (ingesta) / W**. Donde: [metal] = es la concentración de metales en ostión (mg kg^{-1} p.h.); (ingesta) = cantidad de moluscos (kg p.h.) que se consumen por día y W = peso corporal del consumidor (kg). Así mismo se evaluará el riesgo potencial (Rp) por el consumo de estos bivalvos por medio de la relación (USEPA, 1986; Health-Canada, 2003): **Rp = Exposición (mg/kg/día) / Rfd (mg/kg/día)**. Donde: La Rfd (oral reference dose), es la dosis de referencia de metal (mg/kg/día) que puede ser consumida diariamente sin que exista riesgo de efectos nocivos en la salud. Cuando el Rp tiene valores menores a 1 significa que el riesgo es imperceptible y cuando es superior a 1 significa que existe un riesgo alto. También, se evaluará la tasa de consumo (T_c , kg d^{-1}) (USEPA, 2000), que determina la cantidad de ostiones (kg) que una persona puede consumir en un día sin sufrir efectos dañinos, con base en la dosis de referencia (Rfd): **$T_c = Rfd \times W / Cm$** . Donde: C_m = concentración del metal en ostión (mg kg^{-1} p.h.). Se aplicará un factor de conversión ($\times 1000$) para obtener la tasa de consumo en gramos.

LITERATURA CITADA

Bergés-Tiznado, M.E., Páez-Osuna, F., Notti, A., Regoli, F. 2013. Biomonitoring of arsenic through mangrove oyster (*Crassostrea corteziensis* Hertlein, 1951) from coastal lagoons (SE Gulf of California): occurrence of arsenobetaine and other arseno-compounds. *Environmental Monitoring and Assessment*. 185 (9): 7459–7468.

Chávez-Villalba, J., Ibarra-Hernández, A., López-Tapia, M., Mazón-Suástegui, J. 2008. Prospective culture of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* from Northwestern Mexico: Growth, gametogenic activity, and condition index. *Journal of Shellfish Research*, 27(4):711–720.

Covarrubias, S.A., Peña-Cabriales, J.J. 2017. Contaminación ambiental por metales pesados en México: problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 33: 7–21.

Delgado-Álvarez, C.G., Ruelas-Inzunza, J., Osuna-López, J.I., Voltolina, D., Frías-Espericueta, M.G. 2015. Total mercury content in cultured oysters from NW Mexico: Health risk assessment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 94: 209–213.

Frías-Espericueta, M.G., Osuna-López, J.I., Voltolina, D., López-López, G., Izaguirre-Fierro, G., Muy-Rangel, M.D. 2008. The metal content of bivalve molluscs of a Coastal Lagoon of NW Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 80: 90–92.

Frías-Espericueta, M.G., Vargas-Jiménez, A., Ruelas-Inzunza, J., Osuna-López, I., Aguilar-Juárez, M., Bautista-Covarrubias, J.C., Voltolina, D. 2018. Total mercury in the mangrove oyster *Crassostrea corteziensis* of the subtropical Urías Lagoon (NW Mexico). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 18: 853–858.

García-Rico, L., Tejeda-Valenzuela, L., Burgos-Hernández, A. 2010. Seasonal variations in the concentrations of metals in *Crassostrea corteziensis* from Sonora, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 85 (2): 209–213.

Health Canada. 2003. Canadian Handbook on Health Impact Assessment Vol. 3: The Multidisciplinary Team. Version 1.1, 22 p.

Jara-Marini, M.E., Tapia-Alcaraz, J.N., Dumer-Gutiérrez, A., García-Rico, L., García-Hernández, J., Páez-Osuna, F. 2013. Comparative Bioaccumulation of Trace Metals Using Six Filter Feeder Organisms in a Coastal Lagoon Ecosystem (of the Central-East Gulf of California). *Environmental Monitoring and Assessment*. 185 (2): 1071–1085.

Jonathan, M.P., Muñoz-Sevilla, N.P., Góngora-Gómez, A.M., Luna-Varela, R.G., Sujitha, S.B., Escobedo-Urías, D.C., Rodríguez-Espinosa, P.F., Campos-Villegas, L.E. 2017. Bioaccumulation of trace metals in farmed pacific oysters *Crassostrea gigas* from SW Gulf of California coast, Mexico. *Chemosphere*. 187: 311–319.

Mena-Alcántar, M., Zavala-Leal, O.I., Romero-Bañuelos, C.A., Ruiz-Velazco, J.M.J., Nieto-Navarro, J.T., Palacios-Salgado, D, Pacheco-Vega, J.M. 2017. Reproduction of Cortez oyster, *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) in a growing area in the central Mexican Pacific coast. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 45 (2): 485–490.

Moody, J.R., Lindstrom, R.M. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace elements samples. *Analytical Chemistry*. 49 (14): 2264–2267.

Osuna-Martínez, C. C., F. Páez-Osuna, R. Alonso-Rodríguez. 2010. Mercury in cultured oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793 and *C. corteziensis* Hertlein, 1951) from four coastal lagoons of the SE Gulf of California, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 85 (3): 339–343.

Osuna-Martínez, C. C., F. Páez-Osuna, R. Alonso-Rodríguez. 2011. Cadmium, Copper, Lead and Zinc in Cultured Oysters Under two Contrasting Climatic Conditions in Coastal Lagoons from SE Gulf of California, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 87 (3): 272–275.

Páez-Osuna, F., Osuna-Martínez, C.C. 2015. Bioavailability of cadmium, copper, mercury, lead, and zinc in subtropical coastal lagoons from the southeast Gulf of California using mangrove oysters (*Crassostrea corteziensis* and *Crassostrea palmula*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 68 (2): 305–316.

USEPA. 1986. United States Environmental Protection Agency. Guidelines for the health risk assessment of chemical mixtures. Office of Research and Development. Washington, D.C., 321 p.

USEPA. 2000. United States Environmental Protection Agency. Guidance for assessing chemical contaminant data for use in fish advisories. Vol. 2, Risk assessment and fish consumption limits. Washington, D.C., 363 p.

Walne, P.R., Mann, R. 1975. Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In Barnes H. (Ed). Proceedings of the 9th European Marine Biological Symposium. Aberdeen University Press. 587–607.

EVALUACIÓN POBLACIONAL DE LA MERLUZA DEL PACÍFICO *Merluccius productus* (AYRES, 1855) EN EL GOLFO DE CALIFORNIA

Eduardo Alvarez Trasviña¹, Eduardo Alvarez Trasviña¹, Luis Antonio Salcido Guevara¹, Dana Isela Arizmendi Rodríguez², Rebeca Sánchez Cárdenas¹, Guillermo Rodríguez Domínguez¹, Hugo Arancibia Farías³.

¹Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar.

Universidad Autónoma de Sinaloa email:

eduardo_facimar@uas.edu.mx²

Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera Guaymas del Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura.³

Universidad de Concepción.

RESUMEN

La Merluza del Pacífico, *Merluccius productus*, es un pez con hábitos demersales, es considerada un eslabón clave en el ecosistema debido a sus biomazas relativamente grandes y a su relación depredador-presa. En las costas de Estados Unidos y Canadá se obtienen capturas promedios 150,000 t al año. En México, desde la década de 1980 es considerada un recurso con potencial, en la última década sus capturas han alcanzado las 10,000 t. En 2018, se estableció formalmente la pesquería de merluza, por lo que las medidas de manejo del recurso son de nueva generación. Este estudio, tiene como objetivo evaluar y determinar puntos de referencia biológicos que puedan llevar a plantear diferentes escenarios de manejo de una forma sustentable para este recurso. Se cuenta con una base de datos de seis cruceros de investigación realizados entre 2014 al 2017, la información consiste en la ubicación inicial y final de los lances de pesca, tiempo de pesca, profundidad, captura total, captura merluza, así como información biométrica, y 1,890 pares de otolitos. Se determinará la distribución espacial del recurso, la edad y crecimiento y se estimaran puntos de referencia biológicos a través de modelos dinámicos basados en tallas, edades y biomazas (Captura –MRS, Thompson-Bell y Schaefer-Gordon).

Palabras Claves: Cuotas de captura, Máximo Rendimiento Sostenible, Distribución, Crecimiento.

ABSTRACT

Pacific hake, *Merluccius products*, is a fish with demersal habits, is considered a key link in the dynamics of the ecosystem due to its relatively large biomass and its role as predator-prey. On the coasts of the United States and Canada, average catches of 150,000 t year are obtained. In Mexico, since the 80's it is considered a resource with potential, in the last decade its catches have reached 10,000 t. In 2018, the hake fishery was formally established, so the resource management measures are new generation. The objective of this study is to evaluate and determine biological reference points that may lead to different scenarios of management in a sustainable way for this resource, there is a database of six research cruises conducted between 2014 to 2017, the information consists of initial and final location of fishing sets, fishing time, depth, total catch, hake catch, as well as biometric information of hakes, 1,890 otolith pairs.

With this information, the spatial distribution of the resource, age and growth will be determined and biological reference points will be estimated through dynamic models based on size, age and biomass (Capture model -MRS, Thompson-Bell and Schaefer-Gordon).

Key words: Catch, Maximum sustainable yield, Distribution, Growth

INTRODUCCIÓN

Merluccius productus, conocida comúnmente como Merluza del Pacífico o Merluza del Pacífico Norte, es un pez con hábitos demersales, su distribución va desde Canadá hasta el interior del Golfo de California, en esta área se ha señalado la existencia hasta de cuatro stocks (Lloris *et al.*, 2003). Las hembras alcanzan la madurez y desovan entre los 3 y 4 años a tallas de 34 a 40 cm LT; la longitud y edad máxima reportada es de 91 cm LT y 16 años (Fishbase, 2018. 21/02/2018), su alimentación se basa principalmente de peces, crustáceos y euphausidos, y en los especímenes adultos se ha registrado la presencia de canibalismo. Un comportamiento habitual en la especie es la concentración en cardúmenes frente a la costa de la península de Baja California para desovar entre los meses de febrero a abril, a profundidades entre los 130-150 m (Fisher *et al.*, 1995; Lloris *et al.*, 2003). En términos ecológicos, es un eslabón clave en la dinámica del ecosistema debido a sus biomazas relativamente grandes y a su papel como depredador-presa (Harvey *et al.*, 2008). Económicamente esta especie es uno de los recursos pesqueros más importantes en las Costas del Pacífico Norte (Estados Unidos-Canadá) con capturas promedios de 152,267 toneladas (FAO, 2018). Desde la década de 1980 en México, a la merluza se le catalogó como un recurso potencial, el cual podría ser una alternativa a las pesquerías tradicionales como son: camarón, pelágicos menores, atún, calamar gigante, tanto en la costa Occidental de la península de Baja California (Balart, 1996) como para el Golfo de California (Grande, 1983). En junio del 2018, su público la ficha de la Carta Nacional Pesquera (DOF, 2018), el cual es uno de los instrumentos legales en materia de pesca, además de la Norma y el Plan de Manejo Pesquero que contribuyen a la regulación de los recursos. En la ficha, se estableció formalmente la pesquería de Merluza del Pacífico para el Golfo de California, donde algunas medidas de manejo son, regular el esfuerzo de pesca y la asignación de una cuota, esta última no se encuentran bien definido los criterios. En este sentido, McAllister *et al.*, 1994 y Punt y Hilborn, (1997, 2001) mencionan que para un manejo adecuado de los recursos se debe considerar lo siguiente: Conocer el estado actual y la productividad del stock y analizar las consecuencias (riesgos y recompensas) de aplicar diferentes estrategias y opciones de manejo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México existen dos stocks de merluza que requieren una evaluación específica; el stock de la Costa Occidental de Baja California, el cual es considerado un recurso con potencial de desarrollo, mientras para el stock del Golfo de California no hay estudios suficientes que permitan establecer puntos de referencia biológicos para el manejo óptimo del recurso, no obstante, la serie de capturas de 2000 a 2018 muestran decrementos e incrementos en las capturas, los actores del recurso, señalan que este comportamiento está asociado a cuestiones de mercado y no a la disponibilidad del recurso. Por lo anterior, este estudio está enfocado en describir el estado actual del recurso Merluza del Pacífico y proponer una estrategia de manejo

sustentable mediante el análisis de diferentes escenarios de capturas, lo cual contribuya a una administración eficiente de su pesquería.

HIPÓTESIS

El stock de Merluza del Pacífico que habita en el Golfo de California, se encuentra subexplotado.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar y determinar puntos de referencia biológicos que puedan llevar a plantear diferentes escenarios de manejo de una forma sustentable para la Merluza del Pacífico en el Golfo de California y su evolución en el tiempo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la distribución espacial de la merluza.
- Determinar la estructura por edades de la merluza.
- Determinar la biomasa de la población de la merluza.
- Evaluar la población de merluza a través de modelos dinámicos basados en tallas, edad y biomasa.

MATERIALY MÉTODOS

El área de estudio fue el Golfo de California, desde los 27.5° y 31.5° de latitud norte y entre 110° y 114.5° de longitud oeste, en la costa de Sonora y costa oriental de Baja California. Los datos se obtuvieron de los cruceros de investigación científica realizados por el buque BIP XI del Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA) del 2014 al 2017. De cada crucero se cuenta con una base de datos la cual contiene información de ubicación inicial y final de los lances de pesca, tiempo de pesca, profundidad, captura total, captura merluza del Pacífico.

Distribución espacial: Con el fin de conocer la distribución espacial de la merluza, se establecerán estratos de profundidad, se analizarán las diferencias entre tallas y sexos, se realizarán pruebas estadísticas con el fin de evaluar las posibles diferencias. Se analizará la relación entre la distribución de la merluza y algunos parámetros ambientales, como la temperatura de fondo, la salinidad, profundidad y productividad (Cl_a).

Edad y crecimiento: Se cuenta con una colección de 1,890 pares de otolitos, los cuales serán utilizados para determinar la edad de los organismos, la edad se determinará contando las bandas de crecimiento, una marca de crecimiento en el otolito, está definida por el conjunto de una zona opaca y una traslúcida. Para la evaluación del crecimiento individual de la merluza, se generará una base de datos de talla a la edad, a los cuales se aplicará el enfoque multimodelos.

Método de captura-máximo rendimiento sostenible (Martell y Froese, 2012): Con el fin de evaluar la evolución de la biomasa, así como el estatus de la merluza, se aplicará el método de Martell y Froese (2012), para el cual se utilizará las capturas comerciales y estimaciones de

resiliencia (r), la cual se obtendrá de la página de FishBase, los intervalos de entrada de capacidad de carga (K) se obtendrán de la siguiente manera: la K_{inicial} como la máxima captura en la serie de tiempo y la K_{final} multiplicando por 100 la máxima captura. El método Captura-MRS requiere una serie de tiempo de capturas C_t , intervalos de biomasa inicial (λ_{01} , λ_{02}) y final (λ_1 , λ_2) del stock en la serie de captura, como una proporción de la capacidad de carga (K) y un conjunto de valores de r (tasa máxima de incremento poblacional) y K seleccionados a través de un proceso aleatorio de una distribución uniforme en un intervalo para cada parámetro. Posteriormente se realizarán estimaciones de la biomasa anual usando el modelo de producción excedente de Schaefer (1954) con cada par de valores de r y k generados y utilizando la distribución de Bernoulli como función de verosimilitud para aceptar o rechazar cada par de r - k , si no llevan al modelo a colapsar el stock o exceder la capacidad de carga y que la biomasa resultante quede incluida en el rango de depleción (λ_1 , λ_2) asumido. Para así obtener puntos de referencia biológicos (RMS , B_{RMS} , F_{RMS}).

Modelo predictivo de Thompson y Bell: El modelo de Thompson y Bell (1934) se utiliza para predecir los efectos de los cambios en el esfuerzo de pesca sobre los rendimientos futuros y consiste en el desarrollo de dos etapas principales: 1) Provisión de entradas esenciales y opcionales, y 2) el cálculo de salida bajo la forma de predicciones de rendimientos futuros, niveles de biomasa y aun del valor de los rendimientos futuros. El modelo utiliza los valores de entrada de un análisis de cohorte, estructurado por tallas o edades, y éstos son las mortalidades por pesca por grupo de tallas (H), el número de sobrevivientes en el primer intervalo de tallas y adicionalmente los parámetros de la relación Longitud vs. Peso (Sparre y Venema, 1997). Con el valor del número de sobrevivientes para el intervalo de tallas más pequeñas registrado (se obtendrá del modelo de Jones), se calcula el siguiente valor de sobrevivientes. La estimación de mortalidad por pesca específica para cada talla (F_I), mortalidad por pesca promedio anual (F) y abundancias por talla (N_I) serán estimadas mediante un Análisis de Cohortes basado en tallas de Jones (Jones, 1984, Nevárez *et al.*, 2006) en base anual e incorporando mortalidad natural (M) para cada año, suponiendo M constante para todas las edades y dentro de cada año. Además, las variaciones de los rendimientos futuros (Y , en toneladas) y la biomasa promedio anual (B_m , en toneladas) de la población serán exploradas con el modelo predictivo de Thompson-Bell (Sparre y Venema, 1997). El modelo asume un equilibrio, por ello, se toma el número total de individuos de la captura por intervalo de talla de las últimas tres temporadas. Finalmente, se estima el rendimiento máximo sostenible (RMS), la mortalidad por pesca asociado a ese rendimiento (F_{RMS}) y el valor de mortalidad por pesca que se corresponde con un escape proporcional de la biomasa de reproductores, en porcentaje ($F_{\%BD}$); el escape se define como el número de reproductores que viven hasta el final de la temporada de pesca, como proporción de los que podrían haber vivido si solamente hubiera habido mortalidad natural (Basson y Beddington, 1993).

Modelo bioeconómico de Schaefer-Gordon: La base del modelo de Gordon (1954) deriva de la función de rendimiento incorporando el componente económico, mismo que aborda el problema de los recursos de propiedad común y desarrolla la teoría del acceso abierto. El análisis consiste en calcular el Máximo Rendimiento Sostenible (MRS), Máximo Rendimiento Económico (MRE) de acuerdo a Anderson y Seijo (2010), así como la Biomasa en Equilibrio Bioeconómico (Bebe).

El modelo establece que los ingresos netos (π) derivados de la actividad pesquera están en función de los ingresos totales sostenibles (ITS) y los costos totales (CT): $\pi = \text{ITS} - \text{CT}$

También se expresa de la siguiente forma: $\pi = pC - cf$

Dónde: p es el precio promedio por kilogramo de merluza, C es la captura total de merluza del Pacífico, f es el esfuerzo aplicado y c es el costo constante por unidad de esfuerzo que incluye costos fijos (depreciación, intereses, gastos administrativos, etc) y costos variables (combustible, alimento, etc.) Gordon (1954) supone condiciones de equilibrio en la población para obtener un rendimiento sostenible en el largo plazo. Asimismo, considera que en equilibrio económico los ITS iguala a los CT y por lo tanto $\pi(t)$ es igual a cero cuando la derivada de la biomasa con respecto al tiempo es igual a cero, entonces se presentan condiciones de equilibrio biológico y económico simultáneamente (equilibrio bioeconómico).

LITERATURA CITADA

Anderson, L.G. y J.C. Seijo. 2010. Bioeconomics of fisheries management. Wiley-Blackwell, New Jersey. 305 p. ISBN 0813817323

Basson M., Beddington J.R. 1993. Risks and uncertainties in the management of single-cohort squid fishery: the Falkland Islands *Illex* fishery as an example. pp. 253–260. In: Smith S.J., Hunt J.J., Rivard D. [ed.]. Risk evaluation and biological reference points for fisheries management. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 120. ISBN 0706-6481

Balart F.E. 1996. Recurso Merluza. En Casas, M., Ponce, G. (eds) Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Centro Investigaciones Biológicas. 264-271 p. ISBN 158-968-6837-16-7.

Diario Oficial de la Federación 2018. Carta Nacional Pesquera 2017. 69 p. Consultado en: www.dof.gob.mx

Fischer W., Krupp F., Schneider W., Sommer C., Carpenter K., Niem V.H. 1995. Guía FAO. Para La Identificación De Especies Para Los Fines De La Pesca. FAO, Pacífico centro-oriental, Roma, ISBN:0121797317:1813 p

Froese R., Pauly D. Editors 2018. Fish Base. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, 21/02/2018.

FAO, 2018. Producción mundial de pesca y acuicultura. www.fao.org (Consulta agosto 2018).

Grande J.M. 1983. Evaluación biotecnológica de los recursos demersales vulnerables a redes de arrastre de fondo en el golfo de California 1978-1980. Ciencia Pesquera 4:97-125. Consultado en: www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/publicaciones/cienciapesquera/.pdf

Harvey C.J., Gross K., Simon V.H., Hastie J. 2008. Tropical and fishery interactions between Pacific hake and rockfish: effect on rockfish population rebuilding times. *Marine Ecology-Progress. Series* 365:165-176. doi: 10.3354/meps07510

Jones R. 1984. Assessing the effects in exploitation pattern using length composition data (with notes on VPA and cohort analysis). *FAO Fish. Tech. Pap.* 256: 118 p. ISBN: 9251021813

Lloris D., Matallanas J., Oliver P. 2003. Merluzas del mundo (Familia Merluccidae). Catálogo comentado e ilustrado de las merluzas conocidas. *FAO Catálogo de especies par los fines de la pesca No. 2.* Roma. 57 pp. ISSN: 1020-9522.

McAllister M.K., Pikitch E.K., Punt A.E., Hilborn R. 1994. A Bayesian approach to stock assessment and harvest decisions using the sampling/importance resampling algorithm. *Can. J. Fish Aquat Sci.* 51(12):2673-2687. doi.org/10.1139/f94-267

Martell S., Froese R. 2012. A simple method for estimating MSY from catch and resilience. *Fish and Fisheries.* 1-11 p. doi.org/10.1111/j.1467-2979.2012.00485.x

Nevárez M.O., Martínez M.Á., Coteró C.E., Jacob M.L., Green Y., Gluyas G., Cota A., Santos J.P. 2006. Peces pelágicos menores. En: Arreguín F., Beléndez L., I. Méndez Gómez-Humaran, R. Solana-Sansores y C. Rangel-Dávalos (eds.). *Sustentabilidad y pesca responsable en México. Evaluación y manejo.* Instituto Nacional de la Pesca, p: 265-30. ISBN: 968-800-684-X

Punt A.E., Hilborn R. 1997. Fisheries stock assessment and decision analysis: The Bayesian approach. *Rev. Fish Biol. Fish.* 7:35-63. Online ISSN 1573-5184. doi.org/10.1023/A:1018419207494

Punt A.E., Hilborn R. 2001. Bayes-SA. Bayesian stock assessment methods in fisheries –user manual. *FAO computerized information Series N° 12:*56 p. ISBN 92-5-104640-9
Sparre P., Venema S.C. 1997. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte I. *Manual. FAO Doc. Tec. de Pesca,* 306(1): 420 p. ISBN 92-5-303996-5

CARACTERIZACIÓN DE *Anaplasma phagocytophilum* EN EQUINOS DE DEPORTE Y ESPECTÁCULO EN CULIACÁN, SINALOA

Francisca Zatarain Irigoyen, Idalia Enríquez Verdugo, Nohemí Castro Del campo, Soila Maribel Gaxiola Camacho, Carlos Vladimir López Aispuro, Christian Urías Castro.

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias adscrita a la FMVZ-UAS;
mvz.zatarain@gmail.com.

RESUMEN

El género *Anaplasma* pertenece a la familia Anaplasmataceae, en el orden Rickettsiales, y comprende seis especies: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma ovis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis* y *Anaplasma platys*. Son bacterias intracelulares obligadas de células de origen hematopoyético y son agentes etiológicos de garrapatas, causando enfermedades de interés veterinario y médico en regiones tropicales y templadas. La relevancia de su potencial zoonótico ha aumentado enormemente el interés en el estudio de estas bacterias, dentro del género *Anaplasma*, desde el punto de vista geográfico, la especie *A. phagocytophilum* es la más ampliamente distribuida y se ha reportado en Asia, Europa y América. Las disciplinas deportivas equinas, cada vez procuran un mejor estado sanitario óptimo de los equinos para su participación en justas deportivas; de ahí la importancia de evaluar e identificar las patologías que pudiesen alterar el desempeño de los ejemplares, se torna relevante. En el presente trabajo se pretende detectar y caracterizar el gen *Anaplasma phagocytophilum* en sangre de equinos de deporte y espectáculo en Culiacán, Sinaloa. En el cual se realizó un estudio a nivel molecular de 144 muestras de sangre para extracción de ADN, durante los meses de octubre a diciembre del 2018, de los cuales se recopiló información tal como especie, sexo, edad y localidad de procedencia.

Palabras claves: *Anaplasma phagocytophilum*, Caballos, Equino, Anaplasmosis, PCR; *Anaplasma spp.*

ABSTRACT

The genus *Anaplasma* belongs to the family Anaplasmataceae, in the order Rickettsiales, and includes six species: *Anaplasma marginale*, *Anaplasma centrale*, *Anaplasma ovis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis* and *Anaplasma platys*. They are obligate intracellular bacteria of cells of hematopoietic origin and are etiological agents of ticks, causing diseases of veterinary and medical interest in tropical and temperate regions. The relevance of its zoonotic potential has greatly increased the interest in the study of these bacteria, within the genus *Anaplasma*, from the geographical point of view, the species *A. phagocytophilum* is the most widely distributed and has been reported in Asia, Europe and America. The equine sports disciplines, increasingly seek a better health status of horses for their participation in sports jousting; hence the importance of evaluating and identifying pathologies that could alter the performance of the specimens, becomes relevant. In the present work, the aim is to detect and characterize the *Anaplasma phagocytophilum* gene in the blood of sport and show horses in

Culiacán, Sinaloa. In which a molecular level study of 144 samples of blood samples for DNA extraction was carried out, during the months of October to December 2018, from which information was collected such as species, sex, age and locality of origin.

Key words: *Anaplasma phagocytophilum*, Horses, Equine, Anaplasmosis, PCR; *Anaplasma spp.*

INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo de las disciplinas deportivas equinas, ha obligado a procurar un estado sanitario óptimo de los caballos para su participación en justas deportivas; de ahí la importancia de evaluar e identificar las potenciales patologías, que pudiesen alterar el desempeño de los ejemplares, se torna relevante (Rodríguez y Conejeros, 2017). Una de estas potenciales patologías es la Anaplasmosis Granulocítica Equina (EGA) (Rodríguez y Conejeros, 2017). *Anaplasma phagocytophilum* (*A. phagocytophilum*) es una bacteria intracelular obligada Gram negativa, perteneciente al orden Rickettsiales. *A. phagocytophilum* es transmitido por garrapatas de la familia Ixodidae (Lee *et al.*, 2015). Esta bacteria puede infectar a una variedad de animales, incluidos rumiantes, roedores, perros, gatos, caballos y humanos (Rikihisa, 2011). Cuando *A. phagocytophilum* infecta a los caballos, causa Anaplasmosis Granulocítica Equina (EGA), y cuando infecta a los humanos, se denomina Anaplasmosis Granulocítica Humana (HGA); las manifestaciones clínicas de EGA incluyen fiebre, depresión, anorexia, leucopenia, trombocitopenia, edema de las extremidades y ataxia (Rikihisa, 2011). Los caballos enfermos presentan depresión, anorexia, edema de extremidades, ictericia, ataxia y renuencia a moverse, y generalmente se recuperan espontáneamente dentro de 7-14 días (Madigan y Gribble, 1987; Pusterla y Madigan, 2007). *A. phagocytophilum* se clasifica entre los Rickettsiales e incluye múltiples variantes que muestran un tropismo de huésped distinto. Estas variantes, sin embargo, se han unido dentro de una sola especie en función de su parecido genético (Dumler *et al.*, 2001). Rodríguez y Conejeros (2017), identificaron la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum* en equinos Fina Sangre de Carrera (FSC) pertenecientes al Valparaíso Sporting Club, Viña del Mar, Chile. Del lugar se tomaron muestras sanguíneas 50 ejemplares analizados, un 58% correspondieron a machos y un 42% a hembras y las edades variaron de los 2 a 7 años, del total de muestras se encontró un 8% de positividad a *Anaplasma phagocytophilum*. Asimismo en un estudio realizado por López *et al.* (2013), en 138 equinos de Culiacán, encontraron que un 9.42% de ellos se encontraba presente *A. phagocytophilum*. El objetivo del presente trabajo fue identificar *A. phagocytophilum* en los equinos de deporte y espectáculo en Culiacán, Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección por *Anaplasma phagocytophilum* afecta el rendimiento deportivo y salud de los equinos, al no haber una detección oportuna podría hasta generar la pérdida del ejemplar, además se considera como zoonosis.

HIPÓTESIS

Anaplasma phagocytophilum se encuentra en los equinos de deporte y espectáculo en Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

General: Caracterizar *Anaplasma phagocytophilum* en los equinos de deporte y espectáculo en Culiacán.

Específicos:

- Detectar *Anaplasma spp.* en sangre de equinos.
- Identificar *Anaplasma phagocytophilum* en sangre de equinos.
- Caracterizar la secuencia del gen *msp4* de *Anaplasma phagocytophilum* de equinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en equinos de entretenimiento y deporte de Culiacán, Sinaloa. Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México, geográficamente ubicada en las coordenadas 24° 48' latitud Norte y 107° 23' latitud Oeste, con una altura de 60 msnm, la temperatura media anual del estado es de 25°C, las temperaturas mínimas promedio son alrededor de 10.5°C en el mes de enero y las máximas promedio pueden ser mayores a 36°C durante los meses de mayo a julio; con 144, 159 y 92 días despejados, medio nublados y nublados al año, respectivamente; precipitación pluvial promedio anual de 790 mm, con lluvias en verano Julio a Septiembre, el clima de la región es tropical seco (INEGI, 2009).

Muestreo

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue por conveniencia (Thrusfield, 1990).

Criterios de inclusión

Se tomaron muestra de sangre a 144 equinos del municipio de Culiacán, Sinaloa; cuya raza fue Español, Frisón o Cuarto de milla, mayores de 2 años y 6 meses con fin zootécnico de entretenimiento y deporte.

Toma de muestra

Las muestras se tomaron por punción de la vena yugular, se colectaron en 5 ml de sangre de cada ejemplar en tubos Vacutainer estériles con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), cada tubo fue debidamente identificado con el nombre y número de animal muestreado.

Transporte de la muestra

Las muestras se colocaron en un contenedor a 4°C y fueron transportadas al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Análisis de las muestras

Madigan y Pusterla (2000) refirieron que la confirmación de un diagnóstico clínico provisional de Anaplasmosis granulocítica equina está basado en los signos clínicos, anormalidades hematológicas como leucopenia y trombocitopenia, y demostración de cuerpos de inclusión o mórulas de *A. phagocytophilum* en al menos tres neutrófilos de un frotis de sangre. Alternativamente, el diagnóstico puede ser confirmado por la demostración de un incremento del título de anticuerpo mediante la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual se considera altamente sensible y específica.

Tinción Giemsa o Wright: Son tinciones de tipo Romanowsky (Carrade *et al.*, 2009) que están formadas por un colorante ácido y uno o varios colorantes básicos. Estas tinciones son usadas para la evaluación citológica de los frotis sanguíneos o de capa blanca (buffy coat), mediante la utilización del microscopio de inmersión con luz artificial.

Hallazgos en Frotis sanguíneo

La evaluación microscópica de un frotis de sangre periférica o de la capa flogística (buffy coat) es una herramienta diagnóstica práctica y rentable; que se basa en la detección de cuerpos de inclusión o mórulas en el citoplasma de granulocitos de individuos infectados, que suelen evidenciarse durante fase aguda de la enfermedad o bacteremia que cursa con fiebre (Gribble, 1969), y están típicamente ausentes en la fase tardía de la infección (Woldehiwet, 2010). Las mórulas son a menudo escasas y difíciles de detectar, por tanto un frotis de sangre negativo no puede descartar la infección (Franzén *et al.*, 2005; Bjoersdorff, 2016), por lo que se deberá recurrir a otros métodos diagnósticos. La mórula puede ser visualizada en menos del 1% inicialmente, hasta 20 a 30% de los neutrófilos en los días 3 a 5 de la infección en caballos (Madigan y Pusterla, 2015) y más de una mórula podría encontrarse en una sola célula infectada (Franzén, 2008; Uehlinger *et al.*, 2011).

El diagnóstico de Anaplasmosis granulocítica equina puede ser dado mediante la observación de cuerpos de inclusión o la mórula dentro del citoplasma de granulocitos en el frotis sanguíneo de animales con signología (Madigan y Gribble 1987), ya que es el único microorganismo reportado que infecta neutrófilos y eosinófilos en este individuo.

Extracción de ADN

Se obtuvo el ADN mediante la técnica fenol-cloroformo. A 300µl de sangre completa de caballo se agregó amortiguador de lisis (TE: tris 100 mM y EDTA 10 mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubaron a 37°C con calor seco y a 56°C con calor húmedo por una hora respectivamente. Se agregó fenol (1:1), se centrifugaron por 2 minutos a 12000 RPM, de lo que se obtuvo la fase sobrenadante y se le añadió cloroformo (1:1), se centrifugaron por 2 minutos a 12000 RPM, se obtuvo el sobrenadante y se le añadió etanol, se congelaron por 24 horas a -20°C. Se centrifugaron por 20 minutos a 12000 RPM y se decantaron. A la pastilla obtenida se

le agregó 50 µl de agua inyectable estéril (Green y Sambrook, 2012). El ADN se observó en un gel de agarosa al 1% teñido con gel red con luz ultravioleta (Huang *et al.*, 2010).

PCR

El material genético extraído formo parte de una mezcla de reacción para PCR a 25 µl (Buffer 10X MgCl₂, dNTPs, H₂O inyectable estéril, Taq Polimerasa, oligonucleótidos y DNA), La reacción se llevó a cabo en un termociclador (BIORAD T100) para la amplificación del gen *msp4* de *A. phagocytophilum*, por 35 ciclos, la temperatura de desnaturalización se utilizada fue a 94°C por 30 s, la alineación a 60°C por 30 s y la extensión a 68°C por 30 s, con una extensión final de 70°C por 10 min. Con los oligonucleótidos: MSP4AP5 [5'-ATGAATTACAGAGAATTGCTTGTTAGG-3'] y MSP4AP33 [5'-TTAATTGAAAGCAAATCTTGCTCCTATG-3'] (De la Fuente *et al.*, 2005). Los productos de PCR se revelaron en geles de agarosa al 1% teñido con Gel Red y se visualizaron en un transluminador ultravioleta utilizando marcador de tamaño de pares de bases.

Secuenciación

Las secuencias de los genes *msp4* de *A. phagocytophilum*, enviarán a la empresa MACROGEN Inc. # 1001, 254 Beotkkot – ro, Geumcheon – gu, Seoul, South Korea <http://www.bionity.com/en/companies/16588/macrogen-inc.html>

Análisis In Silico

La edición de las secuencias se llevarán a cabo en los programas en línea BioEdit y OligoAnalyzer 3.1 <https://www.idtdna.com/calc/analyzer>. Las identidades de las secuencias se comprobarán en el programa en línea BLASTn https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch.

Análisis de datos

El análisis de los datos que se obtenga se hará mediante tablas de frecuencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hasta el momento se ha extraído ADN de 144 ejemplares por la técnica de fenol-cloroformo y por kit de biología molecular. Se tiene 3 muestras positivas diagnosticadas por observación al microscopio de frotis sanguíneo, de las cuales dos fueron positivas *Babesia caballi* y una *Anaplasma spp.*

CONCLUSIONES

Hasta el momento se tienen 3 muestras positivas, las cuales se diagnosticaron por observación al microscopio de frotis sanguíneo de diferentes hemoparásitos transmitidos por garrapatas en equinos de Culiacán, Sinaloa. Lo que nos da un resultado del 4.32%; falta su identificación a nivel molecular, aun no se ha logrado estandarizar el protocolo para poderlas enviar a caracterizar.

LITERATURA CITADA

- Bjoersdorff A. 2016. Granulocytotropic Anaplasmosis: *Anaplasma phagocytophilum* infection. En: Day M. Arthropod-borne Infectious Diseases of the dog and cat. Boca Ratón: CRC Press. p 177 – 182.
- De la Fuente, J., Massung, R.F., Wong, S.J., Frederick, K.C., Lutz, H., Meli, M., Von Loewenich, F.D., Grzeszczuk, A., Torina, A., Caracappa, S., Mangold, A.J., Narajo, V., Stuen, S., Kocan, K.M. 2005. Sequence analysis of the *msp4* gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains. *Journal of clinical microbiology*, 43(3), 1309-1317.
- Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa, Y., Rurangirwa, F.R., 2001. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51, 2145–2165.
- Frazén P, Aspan A, Egenvall A, Gunnarsson A, Aberg L, Pringle J. 2005. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European Strain of *Anaplasma phagocytophilum*. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19: 232 – 239.
- Franzén P. 2008. On *Anaplasma phagocytophilum* in horses. Doctoral Thesis. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences. 67p.
- Green R. M., Sambrook J. 2012. Molecular cloning. Laboratory manual. 4ta. Edition. Cold Spring Harbor, New York. 2028 p. ISBN 97819336113422.
- Gribble DH. 1969. Equine ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 155: 462 – 469.
- Huang Q, Baum L, Fu WL. Simple and Practical Staining of DNA with GelRed in Agarose Gel Electrophoresis. *Clin Lab* 2010; 56: 149 – 152.
- INEGI. 2009. Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática, Censo Agrícola Ganadero y Forestal 2007. Obtenido el 16 de Enero en <http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/sin/clim.cfm?c=444&e=09>
- Lee S. H, Kim. K. T, Yun. S. H, Choi. E, Lee. G. H, Park. Y. S, K.H, Cho, S. Yi, Kwon. O. D, Kim. T.H, Kwak. D. 2015. Serological and molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in horses reared in Korea. *Veterinari Medicina*, 60, 2015 (10): 533–538.
- López, A. C. V., Gaxiola, C. S. M., Enríquez, V. I., Castro, D.N., Cota, G. S. C. 2013. Identificación de *Anaplasma phagocytophilum* por PCR anidado en equinos de Culiacán, Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa. Colegio de ciencias Agropecuarias. Culiacán, Sinaloa.

Madigan, J.E., Gribble, D., 1987. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968–1981). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 190, 445–448.

Madigan JE y Pusterla N. 2015. Equine Granulocytic Anaplasmosis (Formerl y Ehrlichiosis). En: Robinson N, Sprayberry K. Robinson´s current therapy in Equine Medicine. 7ª ed. United States: ELSEVIER. p 193 – 195.

Pusterla, N., Madigan, J.E., 2007. *Anaplasma phagocytophila*. In: Sellon D.C., Long, M.T. (Eds.), *Equine Infectious Diseases*. W.B. Saunders Co., pp. 354–357.

Rikihisa Y. 2011. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical Microbiology Reviews* 24, 469–489.

Rodríguez J. P., Conejeros, O. C. 2017. Diagnóstico serológico de *Anaplasma phagocytophilum* en caballos Fina Sangre de Carrera pertenecientes al Valparaíso Sporting Club Viña del Mar. *Avances en Ciencias Veterinarias V27 N° 2* 2012.

Uehlinger FD, Clancey NP, Lofstedt J. 2011. Granulocytic anaplasmosis in a horse from Nova Scotia caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Can Vet J* 52(5):537 – 540.

Woldehiwet, Z. 2010. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet Parasitol* 167:108-122.

BIOMASA DE LA SARDINA CRINUDA *Opisthonema libertate*, *O. medirastre* y *O. bulleri* EN EL SUR DEL GOLFO DE CALIFORNIA Jorge Payán-Alejo¹

Guillermo Rodríguez-Domínguez²

Mercedes Laura Jacob-Cervantes³

Raúl Pérez-González²

Jorge Saúl Ramírez-Pérez²

Miguel Ángel Cisneros-Mata⁴

¹Doctorado en Recursos Acuáticos, jorge.payan.facimar@uas.edu.mx

²Facultad de Ciencias del Mar

³Centro Regional de Investigaciones Pesqueras, Mazatlán

⁴Centro Regional de Investigaciones Pesqueras, Guaymas

RESUMEN

En la zona noroeste de México, la sardina crinuda es uno de los recursos pesqueros de mayor importancia por sus volúmenes de captura. En el sur del Golfo de California, los desembarques se realizan en Mazatlán y están compuestos por tres especies (*O. libertate*, *O. medirastre* y *O. bulleri*). Actualmente esta pesquería está certificada por la Marine Stewardship Council como sustentable, por lo que estimar la biomasa de cada una de las especies es de gran importancia para su el manejo adecuado. La evaluación del stock se realizó mediante el Análisis Estadístico de Captura a la Edad (AECE) y comparado con dos funciones de reclutamiento (Beverton-Holt y Ricker). En este trabajo se presentan resultados biomasa del complejo *Opisthoenma* spp., *O. libertate*, *O. medirastre* y *O. bulleri*. En ambas versiones el modelo AECE ajusto de forma adecuada a los años con información independiente de la pesquería. La predicción de la captura mostró menor variabilidad en el modelo ajustado con la función de Beverton-Holt que con Ricker, las diferencias se observan cuando el tamaño del stock empezó a incrementar en 2002. El modelo AECE en ambas versiones predijo el decremento en las capturas de 2008 con año de anticipación y posteriormente predicen los incrementos y decrementos de forma sincronizada. La biomasa estimada para *O. libertate* mostro una tendecia similar al complejo, existe una sincronización en la abundancia de *O. bulleri* y *O. libertate*, mientras que *O. medirastre* es la especie complementaria.

Palabras clave: Biomasa, *Opisthonema*, sardina crinuda y Mazatlán.

ABSTRACT

In the northwestern part of Mexico, thread herring is one of the most important fishery resources for its catch volumes. In the southern Gulf of California, the landings are at the Mazatlan and are composed of three species (*O. libertate*, *O. meterastre* and *O. bulleri*), currently is listed in Marine Stewardship Council this fishery. The stock assessment were made using two recruitment function (Beverton-Holt and Ricker). In this paper, we present results for the species *O. libertate*, *O. meterastre* and *O. bulleri*. The CAGEAN fitted well the abundance index data set with both recruitment functions. The Beverton-Holt function estimate better the catch than Ricker function, the differences was observed with increase the stock size in 2002 and decrease in 2008 was descript in model with both recruitment functions, then the models predicte catch increase and decrease in way sincronized. The *O. libertate* biomass estimated showed similar tend as the *Opisthonema* spp complex biomass, there is a sincronization between *O. bulleri* y *O. libertate* abundance, while *O. medirastre* less abundance specie.

INTRODUCCIÓN

En la zona noroeste de México, los pelágicos menores constituyen uno de los recursos pesqueros de gran importancia para la flota industrial cerquera, siendo Guaymas y Mazatlán los principales puertos de desembarques (SAGARPA, 2012). En el litoral de Sinaloa, Nayarit y Jalisco, el grupo de pelágicos menores de mayor importancia comercial está constituido por el grupo de especies denominado sardina crinuda (Jacob-Cervantes et al., 2013). La sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el golfo de California es actualmente el segundo recurso más importante para la industria reductora, en Mazatlán el complejo *Opisthonema* es la especie objetivo de la pesquería, los desembarques están compuestos por tres especies (*Opisthonema libertate*, *O. bulleri* y *O. medirastre*), que se capturan de forma simultánea (Jacob-Cervantes, 2010), las capturas se concentra principalmente en zonas costeras, cuya distribución longitudinal no supera las 30 mn (Jacob-Cervantes et al., 2013).

El periodo de pesca es anual; las capturas se caracterizan por presentar importantes fluctuaciones espaciales y temporales y de composición específica variable, aunque predomina *O. libertate* (Ruiz-Luna. y Lyle-Fritch, 1992). Estas variaciones pueden ser naturales por migración, pero también pueden ser debidas a la pesca o a la variabilidad ambiental que influyen directamente sobre estos organismos.

Para dar explicación a estas fluctuaciones y determinar el estado en que se encuentran los stocks de peces, es necesario conocer la dinámica poblacional del recurso. Esto involucra trabajos rutinarios de determinación de edad, crecimiento individual y análisis de la estructura de tallas y edades de la población. Determinar la edad en peces es la tarea básica más importante en biología pesquera y es un elemento vital en las decisiones para el manejo racional de las pesquerías (Ehrhardt, 1981). La edad junto con los datos de peso, pueden dar información sobre la composición del stock, ciclo de vida, crecimiento, edad de primera madurez y rendimiento óptimo (Lux, 1971).

La información biológica-pesquera de tallas, edades, crecimiento y capturas del recurso, son complementarias para incorporarlas a modelos que describan el tamaño del stock en número de organismos, uno de los modelos que utilizan esta información es el Análisis Estadístico de Captura a la Edad (AECA) (Haddon, 2011), el cual hace una revisión a través de las cohortes o clases de edades para hacer estimaciones históricas sobre la abundancia del stock en números y la mortalidad por pesca para cada grupo de edad y año. Se analizara información de captura de 1988 a 2018 de las tres especies de sardina crinuda en el sur del golfo de California con el fin de estimar el tamaño del stock y su estatus.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El complejo sardina crinuda está compuesto por tres especies, es el segundo recurso pesquero más importante de pelágicos menores en el Golfo de California. Los análisis de información se basan en composición anual de los desembarques, modelos predictivos de captura dinámica, sin embargo se desconoce la estructura poblacional para las tres especies que permitan tener un mejor aprovechamiento del recurso pesquero.

OBJETIVO GENERAL

Estimar el tamaño del stock del complejo sardina crinuda en el sur del Golfo de California.

OBJETIVO PARTICULARES

- Estimar la biomasa de la sardina crinuda *O. libertate*, *O. medirastre* y *O. bulleri*.
- Estimar el aprovechamiento de la sardina crinuda.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de pesca de la flota sardinera comprende desde Punta Ahome, Sinaloa hasta Bahía Banderas, Jalisco, está delimitada en el polígono incluido entre la Latitud 20-27° N, la Longitud 105-110° W y a un máximo de 20 millas náuticas mar adentro. Esta área se caracteriza por estar incluida dentro de una zona de transición de masas de agua de la corriente Ecuatorial, masas frías de agua de la corriente de California y aguas más cálidas provenientes de la corriente del golfo de California, la cual es altamente dinámica con estructura termohalina de remolinos, frentes e intrusiones originadas por la concurrencia de estas corrientes (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Su localización es variable (Gallegos et al., 1988), durante el periodo invernal cuando la corriente de California es más intensa se localiza hacia el sur, mientras que en el verano cuando la contracorriente Ecuatorial es más intensa se mueve hacia el norte (Aguirre-Gómez, 2002), estas condiciones oceanográficas, causa que la distribución de las especies de sardina crinuda estén restringidas por el ambiente, por lo que la sardina puede o no estar disponible a la flota pesquera en el área de pesca (Figura 1).



Figura 1. Área de pesca de la flota sardinera de Mazatlán.

La información biológica-pesquera necesaria para el desarrollo de este proyecto, proviene del muestreo del Programa de Pelágicos Menores del CRIP-Mazatlán del INAPESCA, que monitorea de manera permanente la pesquería de pelágicos menores, desde finales de la década de 1970. Esta información es equivalente a la que se le proporciona a las Oficinas de Pesca-SAGARPA y que es publicada en los anuarios estadísticos por la CONAPESCA. Para los fines de este estudio se analizó esta información por año calendario. Además se usó información independiente de la pesquería de evaluación de stock por acústica pesquera para los años 2012, 2014 y 2016.

La captura a la edad necesaria para este análisis se estimó a partir de la relación longitud-peso y la estructura de tallas de cada año de las sardinias crinuda de la región sur del Golfo de California, con lo cual se obtuvo un peso a la talla y una frecuencia ponderada en gramos por intervalo. Posteriormente, la proporción de éstos se multiplicó por la captura anual y cada intervalo de talla fue dividido entre el peso a la talla para obtener el número de organismos,

posteriormente aplicó la clave edad-longitud estimada como la proporción de organismos a la edad por intervalo de talla y obtuvo la captura a la edad en números de organismos.

La sensibilidad del modelo se evaluó con diferentes valores de mortalidad natural (M), (Pauly 1980, Hoening 1983, Jensen 1996) considerando como mejor valor de M aquel cuyo ajuste se encuentre entre los estimados del tamaño de stock (*Opisthonema* spp.) determinado por el método acústico.

La mortalidad por pesca se estimó considerando el efecto específico de la selectividad a la edad, tal y como se muestra en la siguiente ecuación (Haddon, 2011):

$$F_{e,a} = S_e * \hat{F}_a$$

Donde $F_{e,a}$ representa la mortalidad por pesca en la edad e para el año a y \hat{F}_a tasa de mortalidad por pesca para el año a y S_e la selectividad en la edad e.

La selectividad estimó con un modelo logístico.

$$S_e = \frac{1}{1 + (e^{-\ln(19) \frac{(e-e_{50})}{(e_{95}-e_{50})}})}$$

S_e es la selectividad a la edad e, e_{50} es la edad donde la selectividad es el 50% y e_{95} es la edad a la que la selectividad es del 95%.

Asimismo, la tasa de mortalidad por pesca por especie se estimó mediante el producto de la capturabilidad a la edad e (q_e), la cual puede ser determinada como el cociente del mortalidad por pesca y el esfuerzo a través de los años ($q_e = \frac{F_a}{f_a}$), f_a es el esfuerzo en número de días para el complejo en el año a.

$$F_a = q_e * f_a$$

Además, se estimó el reclutamiento para el primer año y subsecuentes mediante la función de stock reclutamiento de Beverton-Holt (1957), los valores de entrada del modelo fueron el tamaño del stock reproductor en número de organismos al año a para las cohortes 1-5 años y el reclutamiento en número de organismos un año previo al reclutamiento a la pesquería.

$$\hat{N}_{a,a+r} = \frac{\alpha * B_a^s}{(\beta + B_a^s)}$$

r representa la edad al reclutamiento, B_a^s es el tamaño del stock reproductor en el año a, a+r es el año más el lapso de tiempo antes de que los reclutas se unan a la pesquería, y los parámetros α y β son obtenidos de las relaciones de stock – reclutamiento de Beverton y Holt.

Una vez obtenida la captura a la edad en número de organismos, la tasa instantánea de mortalidad natural, la mortalidad por pesca y el reclutamiento, se realizó la evaluación del tamaño de stock mediante el modelo (cita):

$$N_{e+1,a+1} = N_{e,a} * e^{-(M+F_{e,a})}$$

$N_{e,a}$ es el número de sardinas de edad e en el año a y $F_{e,a}$ es la mortalidad por pesca a la edad e y durante el año a.

Una vez que se estimó el número de organismos por grupo de edad, se pudo generar la captura a la edad estimada $\hat{C}_{e,a}$ (Baranov, 1918):

$$\hat{C} = F(e, a) / (M + F(e, a)) N_{e,a} (1 - e^{-(M+F_{e,a})})$$

Además de la información de captura por edad, mortalidad por pesca, esfuerzo y las relaciones del stock-reclutamiento, se incorporó información independiente de la pesquería.

$$\hat{I}_a = qB_a^E = q \sum W_e S_e N_{e,a}$$

Donde: q es la capturabilidad; B_a^E es la biomasa explotable para los años 2012, 2014 y 2016 producto de multiplicar el W_e es el peso promedio de los peces a la edad e, S_e la selectividad a la edad e, $N_{e,a}$ es el número de organismos estimados a la edad e en el año a.

Los valores óptimos de los parámetros se obtuvieron maximizando la logverosimilitud de cada modelo, posteriormente la logverosimilitud de cada modelo fueron agrupadas y ponderadas para un ajuste final (Myers et al., 1999; Haddon, 2011). La incertidumbre de los valores óptimos de captura estimados, se calculó mediante un remuestreo bootstrapping de 1000 iteraciones, el cual se estimó con un intervalo de confianza del 95% (cita):

$$C_{e,a}^b = \hat{C}_{e,a} \left(\frac{C_{e,a}}{\hat{C}_{e,a}} \right)^{boot}$$

Dónde: \hat{C} es la captura a la edad esperada y el residual, mientras que $\left(\frac{C_{e,a}}{\hat{C}_{e,a}} \right)^{boot}$ representa un residual seleccionado aleatoriamente.

Finalmente con los valores óptimos de F anual y M se calculó el coeficiente explotación anual $E = F/Z$ (Gulland, 1971), valores de $E > 0.5$ sobreexplotado, $E < 0.5$ subexplotado y $E = 0.5$ óptima explotación.

RESULTADOS

Se realizaron estimaciones del tamaño del stock utilizando dos funciones de reclutamiento: 1) Ricker y 2) Beverton-Holt con una mortalidad natural de 0.6 e índice de biomasa de la pesquería para los años 1988 (76,424 t), 2012 (685,518 t), 2014 (606,472 t) y 2016 (491,525 t). En general, el AECE ajustado con ambas funciones de reclutamiento describe de forma adecuada el tamaño del stock, se observó que durante los primeros 14 años (1988-2001) la biomasa estimada se sostuvo entre 200,315 y 474,737 t, posteriormente el tamaño del stock presentó un incremento acelerado de 2002 hasta 2010, donde se presentaron los valores máximos de biomasa estimada por el modelo AECE con ambas funciones de reclutamiento 1,407,523 t y 1,110,797 t para Ricker y Beverton-Holt respectivamente y una posterior disminución del tamaño del stock. Cuando el tamaño del stock decrece, el modelo AECE con la función de Beverton-Holt encuentra una estabilidad en un nivel de biomasa mayor de 610,000 t, sin embargo, el modelo con la función de Ricker estima un nivel de biomasa menor (464,879 t) y un posterior incremento. Para el último año 2017, el modelo AECE con la función de Ricker estima un tamaño de stock de 779,898 t y con Beverton-Holt de 664,946 t (Figura 2).

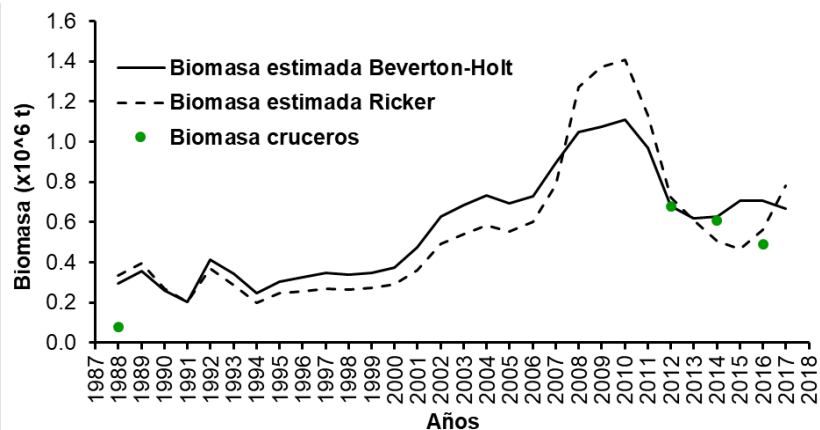


Figura 2.- Biomasa estimada para el complejo de sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) en el sur del Golfo de California ($M = 0.6$).

El modelo AECE ajustado con la función de reclutamiento de Beverton-Holt fue el que menor AIC obtuvo y de acuerdo a la selección multimodelo es el mejor modelo con el soporte estadístico de $\Delta AIC = 0$, mientras que el modelo con la función de Ricker obtuvo un $\Delta AIC = 22.1$ para el conjunto de datos analizados (Tabla I).

Tabla I.- Valores de AIC y ΔAIC estimados para el AECE ajustado con Beverton-Holt y Ricker.

Modelo	AIC	ΔAIC
Beverton-Holt	426.9 *	0
Ricker	449	22.1

* mejor modelo

Estimación de la biomasa de *Opisthonema libertate*

En general, la biomasa estimada de *O. libertate* presenta una tendencia similar en magnitudes diferentes a la encontrada para el complejo sardina crinuda de la serie de datos analizados.

La biomasa estimada presentó un mínimo de 26,558 t en 1997 y un máximo de 505,850 t en 2008. El stock se sostuvo entre valores de biomasa promedio de 54,680 t en el periodo del 1988-2000 y presentó un crecimiento en el periodo del 2001-2008 con biomasa promedio de 317,237 t, posteriormente el tamaño del stock disminuyó durante seis años consecutivos a partir del 2009 hasta encontrar un tamaño de stock estable de 176,772 t en 2014, actualmente se encuentra en una fase de estabilidad con una biomasa estimada de 245,531 t en 2017. Los intervalos de confianza (IC) presentaron la mayor incertidumbre cuando el stock se encontraba en fase de crecimiento (Figura 3a).

Estimación de la biomasa de *O. medirastre*

La biomasa estimada presentó un mínimo de 15,887 t en año 2000 y un máximo de 257,331 t en 2017. Uno de los valores más altos de biomasa estimada se presentó en 1988 con 148,823 t, posteriormente el tamaño del stock disminuyó y se sostuvo entre valores de biomasa promedio de 41,273 t en el periodo del 1989-2007, posteriormente el stock presentó un crecimiento con biomasa promedio de 127,974 t en el periodo del 2008-2012, aunque durante el 2013, el tamaño del stock disminuyó a 73,556 t, actualmente se encuentra en una fase de crecimiento con una biomasa estimada de 257,331 t en 2017. Los intervalos de confianza (IC)

presentaron la mayor incertidumbre cuando el stock se encontraba en fase de crecimiento (Figura 3b).

Estimación de la biomasa estimada *O. bulleri*

La biomasa estimada presentó un mínimo de 121,8207 t en 1995 y un máximo de 357,454 t en 2003. Históricamente el tamaño del stock se sostiene en un nivel de biomasa mayor de 100,000 t. Durante el periodo 1989-1991 el stock creció y sostuvo su tamaño entre 177,330-208,102 t y disminuyó su tamaño durante cuatro años consecutivos de 1992-1995, posteriormente el stock presentó una fase de crecimiento con biomasa promedio de 205,563 t en el periodo de 1996-2003, seguida de una fase de disminución a partir del 2004 hasta un tamaño de stock de 145,519 t en 2009, la última fase de crecimiento se presentó de 2010-2012 con una biomasa promedio de 276,492 t, actualmente se encuentra en un nivel de biomasa estimada de 239,252 t para 2017. Los intervalos de confianza (IC) presentaron la mayor incertidumbre cuando el stock se encontraba en fase de crecimiento (Figura 3c).

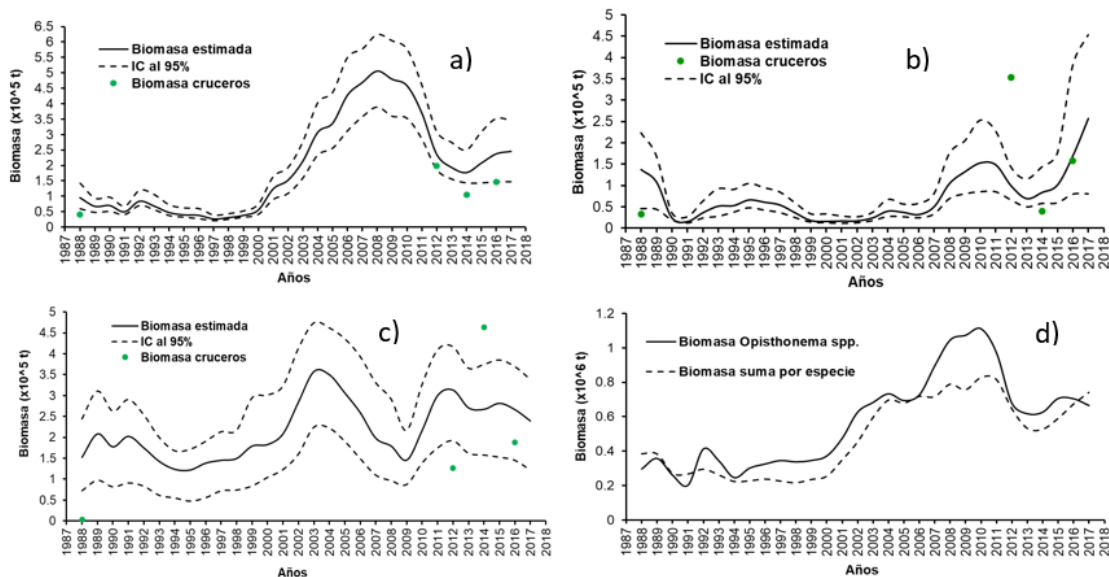


Figura 3.- Biomasa estimada de a) *O. libertate*, b) *O. medirastre*, c) *O. bulleri* y *Opisthonema* spp. del sur del Golfo de California ($M = 0.6$). Las líneas punteadas y en color gris representan los intervalos, superior (U 95%) e inferior (L 95%) con el 95% confianza.

Explotación

La tasa de explotación (E) para el complejo *Opisthonema* spp. presentaron una tendencia creciente, los mayores niveles de E se presentaron a inicios y al final de la serie de datos analizados, con cuatro periodos distintos de explotación; el primer periodo en 1991 ($E=0.626$), el segundo en 1997 ($E=0.354$), el tercero de 2006-09 se mantiene en niveles estables de E (0.397-0.434) y el cuarto en 2013-14 ($E=0.415$ y 0.422). Actualmente la explotación se encuentra en los niveles máximos, sin embargo, el recurso se encuentra en la fase de subexplotada y próximo al nivel óptimo (Figura 4a).

En *O. libertate*, se obtuvieron los mayores niveles E (0.743) en 1997, la pesquería presenta tres periodos de explotación; el primero de 1989-91 (E=0.52 y 0.732), el segundo entre 1995-2000 con tres incrementos seguidos de decrementos en los valores de E (1995, E= 0.565; 1997, E= 0.743 y 1999, E=0.649) y el tercer periodo con una tendencia de incremento en la E desde el 2003 hasta el final de la serie de datos (Figura 4b).

Los máximos niveles de E para *O. medirastre* se obtuvieron en 1999 (E=0.818) y los menores en 1994 (E=0.015), la E anual histórica muestra cinco periodos de explotación con bruscos ascensos y descensos entre los periodos de 1990-91 (E=0.789 y 0.627), 1996-2001, (E=0.598 y 0.692), 2004-07 (E=0.459 y 0.518), 2009-10 (E=0.588 y 0.555) y 2012-14 (E=0.726 y 0.655) (Figura 4c).

En general los valores de E en *O. bulleri* son bajos a excepción del 2009, los mayor nivel de E fue de 0.825 en 2009 y el menor de E=0.009 en 1994 (Figura 4d), aunque los valores de E muestran una tendencia de incremento.

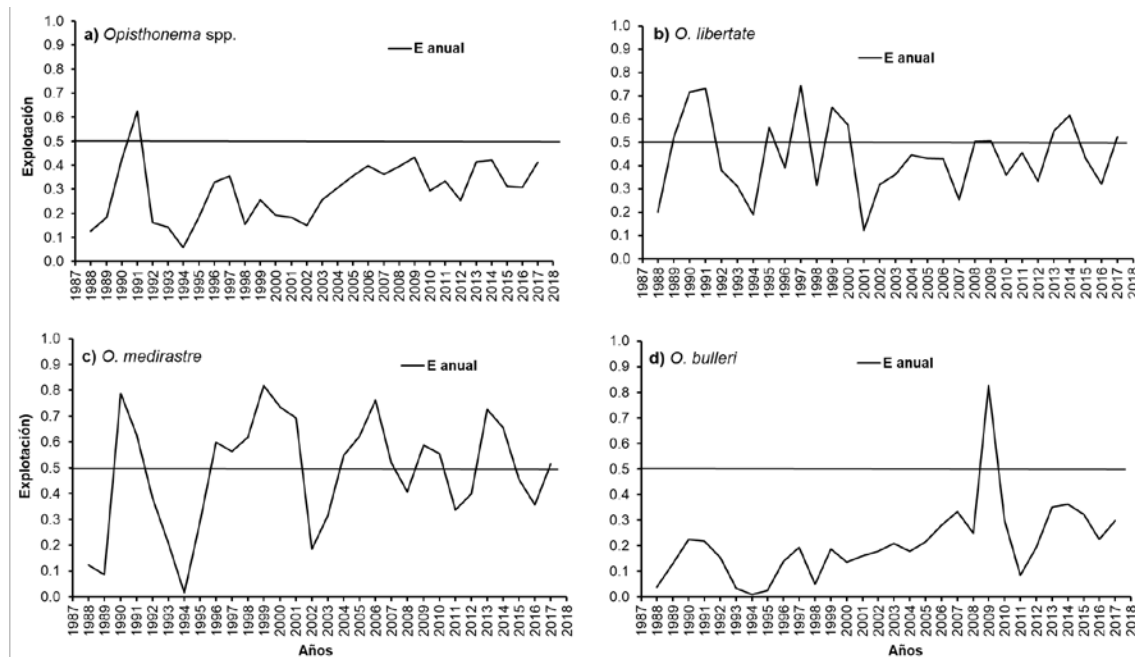


Figura 4. Tasa de explotación anual de la sardina crinuda a) *Opisthonema* spp, b) *O. libertate*, c) *O. medirastre* y d) *O. bulleri* del sur del Golfo de California. La línea negra indica el aprovechamiento óptimo del recurso.

DISCUSIÓN

La determinación de la edad fue de gran importancia para poder realizar la evaluación de la pesquería de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) en el sur del golfo de California, mediante modelos estructurados por edad. El uso de modelos más robustos como AECE, incide en la mejora de los procesos de evaluación y manejo de las pesquerías. Los resultados de este estudio marcan el inicio en la aplicación de modelos estructurados por edad en la evaluación de stock para la sardina crinuda en esta región.

Los resultados de biomasa estimados por AECE y APV sin información independiente de la pesquería presentan diferencias en el tamaño del stock que se deben a que AECE incorpora mayor información de la población. Al incluir información de índices de abundancia independiente a la pesquería (biomasa de cruceros de acústica) al modelo, el AECE utiliza esta información como un punto de referencia para conducir hacia estimados de mayor certidumbre. Los indicadores de abundancia (biomasa de cruceros de acústica) es información trascendental al ajustar un modelo de evaluación de stock, su objetivo es disminuir la incertidumbre de los estimados de tamaños de stock y obtener parámetros fiables.

El modelo ajustado con dos funciones de reclutamiento (Beverton-Holt y Ricker) que difieren en supuestos, permitió tener la biomasa del stock con mayor certidumbre, en las dos versiones el modelo AECE describió los incrementos (2001-2010) y decrementos (2011-2015) de la biomasa. En ambas versiones el modelo ajusto de forma adecuada a los años con información independiente de la pesquería, sin embargo, se carece de esta información auxiliar de forma anual que estabilice al modelo en estimación de biomasa, como se observa en el año 2015 y 2017 incorporando incertidumbre en estos modelos lo que explicaría la discrepancia (114,952 t) entre las tendencias y las biomásas estimadas (Beverton-Holt de 664,946 t y Ricker = 779,898 t) para el año 2017.

La predicción de la captura mostró menor variabilidad en el modelo ajustado con la función de Beverton-Holt que con Ricker, las diferencias se observan cuando el tamaño del stock empezó a incrementar en 2002. El modelo AECE en ambas versiones predijo el decremento en las capturas de 2008 con año de anticipación y posteriormente predicen los incrementos y decrementos de forma sincronizada. Las diferencias en la captura predicha se encuentran en el tamaño del stock y la mortalidad por pesca estimada para cada año con cada versión del modelo, debido a que la captura es predicha con la tasa de explotación y la sobrevivencia.

En la biomasa estimada para cada especie se realizó solo con el modelo AECE con la función de reclutamiento de Beverton-Holt, debido a que fue seleccionado como el mejor modelo cuando se estimó la biomasa para el complejo *Opisthonema* spp. y para fines comparativo se estandarizó el uso. En la estimaciones de biomasa por especie se observa una sincronización entre los tamaños de stock para *O. libetate* y *O. bulleri*, mientras que *O. medirastre* es la especie complementaria con un tamaño de stock menor, sin embargo para el final del conjunto de datos analizados las tres especies obtuvieron un tamaño de stock similar entre 239,000 a 257000 t. Comparar el tamaño del stock estimado para el complejo *Opisthonema* spp. y la suma de los stocks por especie permite tener un mejor entendimiento de la dinámica del recurso y al mismo tiempo elementos para el manejo de estas especies.

Los indicadores como F y E por complejo sardina crinuda presentaron valores de menores a la mortalidad natural ($MN=0.6$) excepto en 1991, lo que indica que el recurso se encuentra en la fase de subexplotada $E<0.5$ y próxima a un aprovechamiento óptimo $E=0.5$ (Gulland, 1971). En cuanto al cociente de $Ct/Biomasa$ explotable mostró que la captura a nivel complejo nunca ha rebasado la biomasa explotable. Cuando se analizó por especie los valores de F y E fueron menores al valor de MN en *O. bulleri* excepto en el año 2009, mientras que en *O. libetate* y *O. medirastre* se observaron pulsos con valores mayores a la MN , estos valores altos se puede atribuir a que el esfuerzo medido en días de viaje no es separable al capturarse las especies de forma simultánea y se utilizó el mismo esfuerzo de complejo sardina crinuda en la evaluación para cada especie, por lo que, cuando disminuye la captura de una de las tres especies (*O.*

libetate, *O. medirastre* y *O. bulleri*) conducen a estimados de F anual altos. En cuanto a E se observa que para el final del conjunto de datos para el complejo sardina crinuda, *O. libetate* y *O. bulleri* indica que el recurso se encuentra en fase subexplotado, mientras que para *O. medirastre* en fase óptima (Gullan, 1971).

CONCLUSIONES

- La información independiente de la pesquería es trascendental, permite estabilizar al modelo cuando el stock se encuentra en fase de crecimiento o decremento y conduzca al modelo a estimados de tamaño de stocks muy grandes o pequeños.
- La evaluación poblacional indica una tendencia a la estabilidad en el tamaño del stock que probablemente permitirá incrementar su tamaño en los próximos años.
- La mortalidad por pesca anual estimada y los indicadores de explotación sugieren que el recurso se encuentra subexplotado muy cerca del aprovechamiento óptimo.

LITERATURA CITADA

- Akaike H. 1981. Likelihood of a model and information criteria. *Journal of Econometrics* 16: 3-14.
- Berry D. H., Barret I. 1963. Análisis de las branquispinas y denominación de las especies del arenque de hebra *Opisthonema*. *Bol. Comm. InterAmer. Atún Tropical* 7(2): 137-190.
- Ehrhardt N. 1981. Curso sobre métodos de evaluación de recursos y dinámica de poblaciones. Tercera parte. Parámetros -Poblacionales. FAO-CICIMAR, La Paz, B.C.S. México.
- Gulland J. 1971. Manual de métodos para la evaluación de las poblaciones de peces. *Manuales en Ciencia Pesquera* 4. Roma, Italia: FAO.
- Haddom M. 2011. *Modelling and quantitative methods in fisheries*. Chapman and Hall. Boca Raton. 452 p.
- Jacob-Cervantes M. 2010. La pesquería de peces pelágicos menores en el sur del golfo de California. Análisis de la temporada de pesca 2008. *Ciencia Pesquera*. 18(2): 47-58.
- Jacob-Cervantes M. L., Vallarta-Zárate, J. R. F., Payán-Alejo, J., Becerra-Arroyo, D., De León-Herrera, R. 2013. Pesquería de pelágicos menores en el sur del golfo de California análisis biológico-pesquero. Informe de Investigación (documento interno), p. 91. SAGARPA-INP-CRIP-MAZ, Mazatlán, Sin. México.
- LUX F. E. 1971. Age determination of fishes (Revised). *Nat. Mar. Fish. Serv. Fish. Leaf.* (637):7 pp.
- Ricker WE. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin* 191. Fisheries Research Board of Canada.
- Ruiz-Luna A., Lyle-Fritch L. P. 1992. Fluctuaciones periódicas de la captura de sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) en el Golfo de California, 1972-1990. *CalCOFI* 33:124-129.
- SAGARPA (2012). Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2011. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

MICROPROPAGACIÓN, ESTABLECIMIENTO Y DESARROLLO EN CAMPO DE COSAHUI DEL SUR (*Krameria erecta* W.) EN EL ESTADO DE SONORA

Diana Miriam Mc Caughey Espinoza¹, Álvaro Reyes Olivas¹, Gloria Irma Ayala Astorga², Gabriel Antonio Lugo García¹, Andrés Ochoa Mesa³ y Antonio Pacheco Olvera⁴.

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias, Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. diana.mccaughey@unison.mx

²Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora.

³Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora.

⁴Facultad de Agricultura de la Universidad de Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

Entre las especies de gran importancia forrajera se encuentra el cósahui del sur (*Krameria erecta* W.) que presenta serios problemas para su propagación en forma natural debido a que es muy consumida por la fauna silvestre como venado cola blanca, liebres, etc. y animales domésticos, como bovinos, caprinos, equinos etc. y por la sobre carga animal presente en los agostaderos o potreros en los cuales existe poca o nula rotación de ganado, propiciando el sobrepastoreo, el cual es el problema principal debido a que incrementa la erosión del suelo y degradación de la diversidad florística que aún se encuentra presente, generando importantes cambios drásticos en los ecosistemas, además, el cambio de uso de suelo y presencia de plagas, contribuyen a la desaparición de estas especies en los ecosistemas naturales a corto o mediano plazo (Mc Caughey-Espinoza *et al.*, 2017).

Existen algunos métodos para la propagación sexual y asexual en plantas, entre los métodos de propagación asexual, se encuentra la propagación *in vitro*, en donde es posible aprovechar tejidos celulares, órganos y semillas, que se siembran en medios de cultivo conteniendo nutrientes y reguladores de crecimiento vegetal. Las plantas tienen capacidad para generar una planta completa de un tejido obtenido a partir de una planta madre, que se conoce como clon (Couselo *et al.*, 2010). Generalmente, se presenta crecimiento, diferenciación y organogénesis de los tejidos si se agrega a los medios nutritivos uno o más reguladores de crecimiento vegetal en diferentes concentraciones (Sathyanarayana y Varghese, 2007; Shrivastava y Roy, 2012). Los reguladores de crecimiento vegetal, son componentes químicos sintetizados en un lugar de la planta, se transportan a otra parte del vegetal donde actúan en bajas concentraciones, regulando el crecimiento y desarrollo de la plántula. Entre los reguladores de crecimiento vegetal, se encuentran las auxinas, citocininas y giberelinas que intervienen en la elongación de la célula vegetal, por otro lado, se encuentran el ácido abscísico y el etileno que son inhibidores de la división celular y otros procesos (Rojas, García y Alarcón, 2003)

Por lo mencionado anteriormente, es importante establecer una metodología adecuada para la obtención de nuevos ejemplares de plantas de cósahui del sur (*Krameria erecta* W.) por medio del cultivo de tejidos, con el propósito de conservación, así como para reforestar áreas con nula o bajas poblaciones de esta especie.

JUSTIFICACIÓN

El cóсахui del sur (*Krameria erecta* W.) es una especie endémica del estado de Sonora, es importante en los agostaderos por su uso forrajero y medicinal. Este arbusto evita la erosión del suelo y es refugio para animales de talla baja. La disminución de poblaciones de esta especie, representaría efectos desfavorables a nivel ecológico y económico por lo que es de vital importancia contar con un sistema eficiente para su propagación enfocada a la reforestación de agostaderos.

HIPÓTESIS

Al utilizar diferentes tipos y concentraciones de fitohormonas *in vitro* en cóсахui del sur (*Krameria erecta*) se obtendrán nuevos individuos por medio de la micropropagación.

OBJETIVO GENERAL

Establecer la metodología de micropropagación del cóсахui del sur (*Krameria erecta*) en condiciones *in vitro* y su posterior adaptación a suelo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el porcentaje de germinación *in vitro* y *ex vitro* de las semillas de cóсахui del sur.
- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento vegetal sobre la producción de callo y raíz.
- Determinar el tipo de explante adecuado para la micropropagación.
- Evaluar crecimiento de las plantas obtenidas.
- Determinar el porcentaje de sobrevivencia de las plantas obtenidas *ex vitro* e *in vitro* al trasplante en el área de estudio.
- Determinar la fenología, plagas y enfermedades a nivel campo.
- Determinar el valor nutricional del cóсахui en su habitat silvestre.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especie en estudio

Cóсахui del sur (*Krameria erecta* W.) es una planta endémica que presenta serios problemas en sus poblaciones silvestres (Mc Caughey-Espinoza *et al.*, 2017).

Área de estudio

Se llevará a cabo en el rancho Las Cruces, ubicado en el municipio de Hermosillo, Sonora, a los 29° 3' 10.41 latitud Norte y 110° 45' 11.76 longitud Oeste con una altitud media de 278 msnm.

Se tendrán 4 cuadrantes de 50 x 50 m, obteniendo un área total de 2500 m² por cuadrante (sitio), se realizará un censo del cóсахui, se tomarán 10 plantas completamente al azar y se realizarán mediciones dasométricas: cobertura basal, altura y cobertura de copa. Se caracterizará el tipo de suelo según su textura, fases líticas, pH, conductividad eléctrica (CE) y

materia orgánica. Para el caso de pH, CE y materia orgánica, además de nitrógeno, fósforo, calcio y magnesio, las determinaciones se harán por triplicado dos veces por año, a finales de verano y a finales de invierno, de acuerdo con los resultados de Ochoa-Meza *et al.*, (2009), y Armenta *et al.*, (2016) durante 1 años. Los análisis de suelo y materia orgánica se llevarán a cabo en el laboratorio de análisis de suelo del Departamento de Agricultura y Ganadería de la Universidad de Sonora (DAG). Se registrarán datos climatológicos durante 2 años.

Preparación del material vegetal y establecimiento del cultivo *in vitro*

Colecta del material vegetal: Las semillas y los explantes se coleccionarán de las plantas en el campo, se monitorearán las plantas, dependiendo de la época de producción de semilla y de brotación para llevar a cabo las colectas. El material vegetal (semillas, tallos, yemas y hojas) se transportará adecuadamente al laboratorio de cultivo de tejidos del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), para evitar su deshidratación.

Desinfestación del material vegetal: Se cortarán explantes maduros de las plantas madres y semillas, los cuales se llevarán al laboratorio de cultivo de tejidos en donde se lavarán con agua corriente para remover las partículas de polvo y tierra. Para la desinfestación, los explantes se sumergirán en alcohol etílico al 70 % por un minuto, se enjuagarán con agua desionizada estéril. Después se sumergirán durante 10-15 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 10-20% agregando una gota de tween 20, se enjuagarán con agua desionizada estéril y por último se sumergirán en ácido ascórbico ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y ácido cítrico ($150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) durante 5 minutos.

Selección de reguladores de crecimiento: Debido a que no hay investigaciones sobre la propagación *in vitro* de *Karmeria erecta* se realizarán pruebas con distintos reguladores de crecimiento. Se emplearán diferentes concentraciones de auxinas (AIB y ANA) y citocinina (BAP), utilizando las siguientes concentraciones (0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mg L^{-1}), también se efectuarán combinaciones de estas. Se sembrarán tres explantes por frasco.

Preparación de medios de cultivo: Se prepararán dos medios de cultivo, MS (Murashige y Skoog, 1962) y WPM (Wood Plant Medium) Trigiano y Gray, 2011. Se utilizarán macronutrientes, vitaminas, se ajustará el pH a 5.7, se adicionará sacarosa y agar, se agregarán 20 o 25 ml a frascos de cultivo, después se esterilizará en una autoclave modelo Sterilmatic, durante 15 minutos, con temperatura de $121 \text{ }^\circ\text{C}$ y una presión de 15 libras.

Siembra: El corte de los explantes (excepto las semillas) se realizará en la cámara de flujo laminar. Los materiales serán: matraces, pipetas, navajas para bisturí, bisturí, agua desionizada estéril, caja petri y pinzas esterilizados en autoclave modelo Sterilmatic, durante 15 minutos, con temperatura de $121 \text{ }^\circ\text{C}$ y una presión de 15 libras. Este procedimiento se realizará en condiciones asépticas en la cámara de flujo laminar (Marca Edge Gard Hood), los explantes serán sembrados asépticamente en frascos y/o tubos de cristal conteniendo los medios de cultivo y colocados en el cuarto de incubación a una temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, 70-75% de humedad relativa con 16 horas luz.

Variables respuesta

Tipo de explante: Se evaluará la respuesta de callo, raíz y desarrollo de brotes foliares.

Días a emisión de brotes foliares: Se registrará el número de días en que los explantes emitan las primeras respuestas de brotes foliares

Tamaño de brotes foliares: Se medirá el tamaño de brotes foliares.

Días a emisión de raíz: Se contabilizará el número de días en que los explantes emitan raíz.

Longitud de tallo: Se medirá la longitud máxima de crecimiento de tallo originado de cada explante.

Evaluaciones agronómicas

Sobrevivencia al trasplante: Se trasplantarán 100 plantas (25 por cada cuadrante) se evaluará sobrevivencia a los 15 y 30 días después de su trasplante y posteriormente será cada mes durante dos años.

Pruebas de germinación *ex vitro*: El porcentaje de germinación, se determinará de acuerdo a la Asociación Internacional de Ensayos de Semillas (ISTA, 2004), en dos temperaturas diferentes (25 y 30 °C).

Valor nutricional: Se evaluará el porcentaje de proteína, fósforo, potasio y calcio en las 4 estaciones del año (plantas silvestres), durante un año. Se llevarán a cabo en los laboratorios de nutrición animal y nutrición vegetal del DAG.

Fenología, plagas y enfermedades: Existe poca información del comportamiento de *Krameria* a nivel campo, se monitoreará cada mes durante un año, así como la presencia de plagas y enfermedades a nivel campo.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizará un diseño completamente aleatorizado, se contará con un testigo y se establecerán 15 repeticiones por concentración.

El primer experimento estará orientado a evaluar el efecto de cinco niveles de AIB, ANA y BAP (0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2 mg L⁻¹) por separado y dos medios de cultivo (MS y WPM) sobre la inducción de raíces y/o callos en los explantes de cosahui del sur; para tal efecto los factores serán ordenados de forma factorial (5x5X5X2).

En el segundo experimento se evaluará el efecto de la combinación de cinco niveles de AIB, ANA y BAP (0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2 mg L⁻¹) y dos medios de cultivo (MS y WPM) sobre la inducción de raíces y/o callos en los explantes de cosahui del sur; para tal efecto los factores serán ordenados de forma factorial (25X2).

Para el porcentaje de germinación de las semillas *ex vitro* e *in vitro*, se considera evaluar la germinación de semillas normales, anormales y no germinadas, para ello se llevará a cabo un diseño experimental completamente al azar.

Con los datos obtenidos *in vitro* y *ex vitro* de cada una de las variables se efectuará un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de significancia de $p < 0.05$, y para observar si existen diferencias significativas se empleará la prueba de medias de Tukey-Kramer con un alfa de 0.1%. Estos análisis se llevarán a cabo con el uso del paquete estadístico JMP 5.0.1a (JMP, 2002).

LITERATURA CITADA

Armenta CAD, Furrázola Gómez, E, Moreno-Salazar, S. F, Ayala-Astorga, GI, y Ochoa-Meza, A. 2016. Variación en el estatus micorrizico de leguminosas del desierto sonorense. Biotecnia, 18:52-58. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/viewFile/244/196>

Couselo, J. L. Corredoira E., Vietez A. M., y Ballester A. 2010. Aplicación del Cultivo *in vitro* de Tejidos Vegetales en Estudios de Fitorremediación. Revista Real Academia Galega de Ciencias. Volumen 29. 77-88 pp. <https://www.ragc.gal/sites/default/files/revistas/articulos/pdf/cultivoinvitro.pdf>

International Seed Testing Association. (ISTA). 2004. International Rules for Seed Testing. International Seeds Testing Association, Basserdorf, Switzerland. p. 700

Mc Caughey-Espinoza Diana M., Ayala-Astorga Gloria Irma, Velázquez-Caudillo Juvenal, Anaya-Islas Jesús y Canseco-Vilchis Eduardo. 2017. Creación de un jardín botánico y de árbol madre de arbustivas forrajeras nativas del estado de Sonora. Rev. IDESIA Vol. 35, no.4, p.35-45. ISSN 0718-3429; DOI.10.4067/S0718-34292017000400035

Murashige, T. and Skoog, F. A.1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15(3): 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.X>

Rojas, G. S., García, L. J. y Alarcón R. M. 2004. Propagación Asexual de Plantas: Conceptos Básicos y experiencias con especies amazónicas. 1era Edición. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Colombia. 8-9 pp. ISBN. 958-8210-57-7

Ochoa-Meza A, Esqueda M, Fernández-Valle R, Herrera-Peraza R. 2009. Variación estacional de hongos micorrízicos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la Sierra Sonorense, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 32:189-199. ISSN 0187-7380

Shrivastava, A. and S. Roy. 2012. Callus multiplication of a medicinally important vegetable *Luffa cylindrica*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 3(3):526- 531. ISSN. 0975-6299

Trigiano, R.N. and Gray D.J, 2011. Plant tissue culture, development, and biotechnology. Eds. CRC Press Boca Raton, Florida, USA, 359-364 p. ISBN 9781420083262

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE CAMARÓN CAFÉ *Penaeus californiensis* EN BAHÍA Y PLATAFORMA CONTINENTAL EN NAVACHISTE, SINALOA, UTILIZANDO UN ENFOQUE MULTIMODELO.

LBP. Luis Adán Félix Salazar¹, Dr. Guillermo Rodríguez Domínguez¹, Dr. Wenceslao Valenzuela Quiñonez². Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. l.felixs.facimar@uas.edu.mx.

²Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional.

RESUMEN.

El camarón café *Penaeus californiensis* es un camarón completamente oceánico que se acerca a la zona litoral para su reproducción según Dall *et al* (1990), sin embargo, en el norte de Sinaloa se ha observado que también ingresa a lagunas costeras para crecer y reproducirse (Romero-Sedano *et al.*, 2004; Valenzuela-Quiñones *et al.*, 2007). Para probar la hipótesis de que el crecimiento de *P. californiensis* difiere en estos dos ambientes y que el crecimiento relativo (alometría) cambia con la talla y ambiente, se realizaron muestreos mensuales de camarones en la zona litoral y al interior de la Laguna de Navachiste. Para determinar el crecimiento se identificaron grupos de edad en las estructuras de tallas a través del tiempo. Cinco casos del modelo de Schnute se ajustaron a los datos y se seleccionó el mejor usando selección multimodelo (SM). Con SM también se probaron siete modelos para describir la relación longitud peso y se estimó el coeficiente de alometría por talla para identificar cambios relativos del crecimiento. Los casos 2 y 5 fueron seleccionados como el mejor modelo para hembras y machos respectivamente y el crecimiento promedio difirió entre sexos ($P=0.0097$), pero no entre ambientes ($P=0.559$). La alometría promedio en hembras mostró tres intervalos de tallas (stanzas) con crecimiento relativo constante dentro de ellos, pero diferente entre ellos (<123 mm, 123-145 mm y >145 mm) con alometría negativa las <123 mm, y alometría positiva las otras. En los machos igual se presentan 3 stanzas (<106 mm, 106-138 mm y >138 mm).

Palabras clave:

Akaike, Golfo de California, Selección multimodelo, Schnute, Stanzas.

ABSTRACT.

The brown shrimp *Penaeus californiensis* is a completely oceanic shrimp that approaches the littoral zone for its reproduction according to Dall *et al* (1990), however, in northern Sinaloa it has been observed that it also enters coastal lagoons to grow and reproduce (Romero-Sedano *et al.*, 2004; Valenzuela-Quiñones *et al.*, 2007). To test the hypothesis that the growth of *P. californiensis* differs in these two environments and that the relative growth (allometry) changes with the size and environment, monthly samplings of shrimp were made in the coastal zone and in the interior of the Navachiste Lagoon. To determine growth, age groups were identified in the size structures over time. Five cases of the Schnute model were adjusted to the data and the best one was selected using multimodel selection (SM). With SM, seven models were also tested to describe the weight-length relationship and the allometry-by-height coefficient was

estimated to identify relative changes in growth. Cases 2 and 5 were selected as the best model for females and males respectively and the average growth differed between sexes ($P = 0.0097$), but not between environments ($P = 0.559$). The average allometry in females showed three size intervals (stanzas) with constant relative growth within them, but different between them (<123 mm, 123-145 mm and > 145 mm) with negative allometry <123 mm, and positive allometry the others. In the same males, 3 stanzas are present (<106 mm, 106-138 mm and > 138 mm).

Keywords:

Akaike, Gulf of California, Multimodel Selection, Schnute, Stanzas

INTRODUCCIÓN.

Los camarones pertenecen a la clase crustácea, filum artrópodos, son mandibulados con apéndices birrámeos articulados, tienen dos pares de antenas, branquias y un exoesqueleto de quitina. Poseen un gran potencial reproductivo ya que las hembras pueden desovar hasta un millón de huevecillos (Barnes, 1993).

La importancia de la pesquería del camarón en México es evidente por los volúmenes de producción que se reportan, los datos estadísticos más recientes son los del 2016, contenidos en el Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca (Conapesca, 2016). La producción en peso vivo para ese año fue 76 mil toneladas por captura tanto de alta mar como de lagunas costeras y esteros, y de 130 mil t por acuicultura. El total en peso vivo de camarón es de 206 mil t, y de esa producción, los estados de Sinaloa, Sonora y Nayarit aportan el 80 %.

La familia *Penaeidae* está compuesta por poco más de 168 especies que se distribuyen junto con la mayor parte de la fauna marina de aguas poco profundas de las cuatro regiones tropicales y subtropicales descritas por Ekman en 1953, estas son la región del Indo-Pacífico Occidental, Pacífico Oriental, Atlántico Occidental y Atlántico Oriental (Dall *et al.*, 1990).

El ciclo de vida de los camarones de la familia *Penaeidae* es similar, estadios larvarios planctónicos, incluyendo nauplios, protozoas, mysis y postlarvas, seguidos por etapas juveniles y adultos (Dall *et al.*, 1990). La base para clasificar el ciclo de vida de los peneidos es el ambiente en el que los adultos desovan y las postlarvas se establecen para crecer previo a la etapa juvenil. Dall *et al.* (1990) distinguieron cuatro tipos de ciclo de vida. Para las especies del tipo 1, su ciclo de vida es completamente estuarino. En las del tipo 2, los adultos desovan en la zona costera, los huevos y larvas son dispersados en la zona oceánica, en el estadio de postlarvas migran a la zona litoral cercana a las bocas de los estuarios para establecerse en ellos para su desarrollo, regresan a la zona costera para completar su ciclo. En las especies del tipo 3, los adultos desovan en la zona oceánica los huevo y larvas permanecen en la zona en el estadio de postlarvas migran a la zona litoral para establecerse hasta juveniles para luego migrar a la zona oceánica para completar su ciclo. Los del tipo 4, todo su ciclo de vida es completamente oceánico.

En el norte de Sinaloa este ciclo para *P. californiensis* parece diferir al concepto de Dall, ya que se ha observado que se introducen al interior de lagunas costeras del norte de Sinaloa (Valenzuela-Quñones *et al.*, 2007) y además se reproducen adentro (Romero-Sedano *et al.*, 2004).

La estimación del crecimiento individual es uno de los objetivos importantes para la evaluación y manejo de los recursos pesqueros. El modelo de Schnute es considerado como un modelo generalizado que incluye a otros modelos de crecimientos como casos especiales (Schnute, 1982). La selección a priori de un modelo para describir el crecimiento está cambiando al proceso de selección multimodelo donde varios modelos candidatos son evaluados para describir el crecimiento y se selecciona el mejor utilizando la teoría de la información y el índice de Akaike (AIC). Eventualmente se realiza inferencia multimodelo para describir el crecimiento si el mejor modelo no resulta un verdadero ganador.

El crecimiento relativo del peso respecto a la longitud es conocido como crecimiento alométrico y generalmente se describe a través de una relación longitud peso del tipo potencial, donde el exponente se considera como un coeficiente de alometría y se clasifica el tipo de crecimiento usando como referencia el valor de tres que indica crecimiento isométrico, alométrico positivo o alométrico negativo. Este modelo tradicional también asume que el coeficiente de alometría es constante a través del desarrollo ontogenético del camarón (ej. como incrementa edad o talla), pero los cambios de ambiente lagunar a marino o los cambios de juvenil a madurez pueden cambiar este crecimiento relativo y para poder detectar estos cambios, el modelo potencial no es adecuado. Katsanevakis *et al*, (2008) propuso otros modelo para describir relaciones alométrico de organismos marinos, que permiten observar estos cambios asociados con la fisiología o cambios de hábitat de los organismos. El enfoque multimodelo también es importante para la selección e inferencia del mejor modelo o del modelo promedio.

ANTECEDENTES.

La especie *Penaeus californiensis*, camarón café es una especie estenohalina y completa su ciclo de vida en el mar (Olguín Palacios, 1967; Hendrickx *et al*, 1995). Estudios realizados en lagunas costeras de Sonora y Sinaloa muestran suficiente evidencia de que el camarón café utiliza estas lagunas como hábitat para reclutamiento, crecimiento y madurez (Valenzuela-Quíñonez *et al*, 2007). En lagunas de zonas áridas, con comunicación permanente al mar y características antiestuarinas, los camarones peneidos presentan un ciclo de vida que difiere en algunos aspectos ecológicos del que generalmente es aceptado para las otras condiciones (Romero-Sedano *et al*, 2004).

Los modelos que describen el crecimiento de los organismos, representa curvas que tienen diferentes formas, el más utilizado es el modelo de crecimiento de von Bertalanffy MCVB (von Bertalanffy, 1938), pero ha sido cuestionado porque es para crecimiento continuo, por lo que se han utilizado otros modelos alternativos como Johnson (Johnson, 1935), Gompertz (Gompertz, 1825), Richard (Richard, 1959), el Logístico (Ricker, 1975), y Schnute (Schnute, 1981). Este último incorpora el MCVB, Gompertz, Richards y Logístico como casos especiales.

Zhu *et al*. (2009) compararon 6 criterios de decisión y recomendaron el criterio de información de Akaike (AIC) y el criterio Bayesiano (BIC) como mejores para la selección de modelos de crecimiento (Burnham & Anderson, 2002).

Área de estudio.

El sistema de la laguna costera de Navachiste, Sinaloa se localiza de los 25°22' a los 25°35'N y de los 109°05' a los 108°45' W. Se encuentra en el municipio de Guasave. El sistema en su

conjunto tiene una superficie de 2, 505 km² y presenta zonas someras con profundidades menor a 1 m y canales submarinos de más de 10 m de profundidad (Contreras, 1985).

El sistema se compone de tres cuerpos de agua interconectados, Bahía de Macapule, Navachiste y San Ignacio (figura 1). Cuenta con dos bocas de comunicación permanente con el Golfo de California, llamadas Ajoro y Vasiquilla, con una longitud aproximada de 1.5 km.

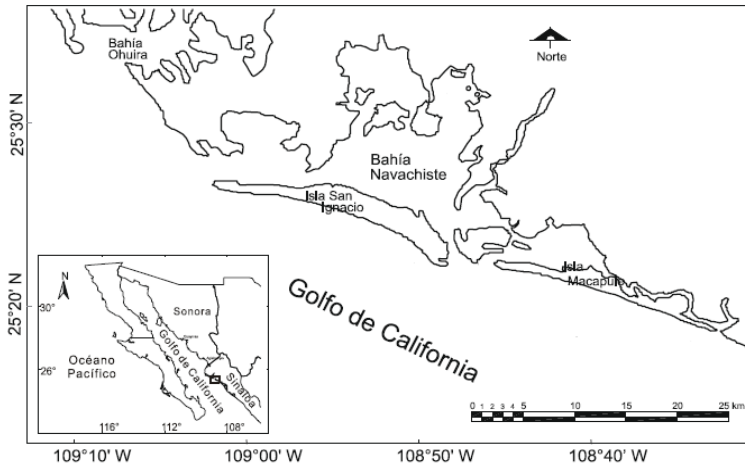


Figura 1. Área de estudio, Bahía de Navachiste.

Planteamiento del problema

Es importante el estudio del crecimiento de esta especie para determinar la edad en la que se presenta algún tipo de migración entre la bahía y zona costera adyacente.

Por lo tanto es importante saber si ¿El modelo potencial describe el tipo de crecimiento de *P. californiensis*?, ¿El coeficiente de alometría no cambia con la talla?, ¿El camarón *P. californiensis* crece primero en la bahía y luego migra hacia afuera a seguir creciendo?, ¿El modelo de von Bertalanffy es el mejor modelo para describir el crecimiento de *P. californiensis*?, ¿El crecimiento de camarón café en la zona es igual dentro y fuera de la bahía?, ¿Existen diferencias significativas en el crecimiento entre sexos?

HIPÓTESIS

- 1.- El crecimiento de *P. californiensis* es isométrico tanto dentro como afuera de la bahía.
- 2.- El modelo de Schnute es el mejor para describir el crecimiento de *P. californiensis*.
- 3.- Existen diferencias en el crecimiento de machos y hembras.

OBJETIVOS

GENERAL.

- Desarrollar el modelo de crecimiento de camarón café *Penaeus californiensis* en el área litoral y Bahía de Navachiste con un enfoque multimodelo.

ESPECÍFICOS.

1. Determinar el tipo de crecimiento de camarón café en los dos ambientes y sexos.
2. Estimar el crecimiento de la especie separada por ambientes y por sexos con un enfoque de selección e inferencia multimodelo.
3. Determinar si existen diferencias en el crecimiento entre sexos y entre ambientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizarán muestreos mensuales para la recolección de camarones en etapas juvenil, subadultos y adultos en embarcaciones menores a 7 m de eslora. Los camarones capturados fueron medidos (longitud total; y posteriormente agrupados en intervalos de 5 mm cada sexo por separado).

Análisis de datos

A los datos de longitud y peso transformados por el logaritmo natural se ajustaron siete modelos candidatos para seleccionar el mejor modelo que describa la relación Longitud-Peso a través de un procedimiento de selección multimodelo (modelo lineal, cuadrático, cúbico, de línea rota, dos segmentos, tres segmentos y cuatro segmentos). Posteriormente a través de un proceso de inducción multimodelo se obtuvo el coeficiente promedio de alometría por intervalo de talla.

La frecuencia de camarones por intervalo de tallas se analizó a través de un modelo multinormal para identificar las cohortes que componen la tabla de frecuencias observadas a través de la función:

$$F_i = \sum_{\alpha=1}^n \left[\frac{1}{\sigma_{\alpha} \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x_i - \mu_{\alpha})^2}{2\sigma_{\alpha}^2}} \right] * P_{\alpha}$$

Donde x_i es la marca de clase para el intervalo de talla i , μ_{α} es la media de la cohorte α , σ_{α} es la desviación estándar de la cohorte α , P_{α} es el número de camarones en la cohorte α y F_i es la frecuencia de camarones en el intervalo de talla i .

El modelo se ajustó maximizando la siguiente función de Logverosimilitud:

$$LL\{X|\mu_{\alpha}, \sigma_{\alpha}, P_{\alpha}\} = - \sum_{i=1}^n f_i \ln \left(\frac{F_i}{\sum F_i} \right) * \left(\sum f_i - \sum F_i \right)^2$$

Donde $\{X|\mu_{\alpha}, \sigma_{\alpha}, P_{\alpha}\}$ es el objetivo a maximizar para los parámetros $\mu_{\alpha}, \sigma_{\alpha}, P_{\alpha}$; f_i es la frecuencia observada de camarones en el intervalo de talla i y F_i es la frecuencia estimada de camarones en el intervalo de talla i .

Las cohortes serán definidas de acuerdo a los criterios:

1. Índice de separación de medias (Sparre y Venema, 1998).

$$I.S = 2 * \frac{(\mu_2 - \mu_1)}{(\sigma_1 + \sigma_2)}$$

2. El criterio de información de Akaike (AIC). El valor más pequeño del índice de información de Akaike corregido para muestras pequeñas AICc se interpretará como el mejor ajuste.

$$AIC_c = 2(k - LL) + (2k(k + 1)/(n - k - 1))$$

Donde k es el número de parámetros estimados y n es el número de observaciones.

Una vez identificadas las cohortes, se graficarán por secuencia de tiempo, esto permitirá identificar la progresión modal de las cohortes. Para estimar los parámetros de crecimiento individual de *P. californiensis*, dentro de la bahía, fuera de la bahía e integrado (bahía y zona costera adyacente) se utilizarán los cinco casos del modelo de Schnute (1981), para aplicarlos al seguimiento de longitudes medias por intervalos de tiempo. Los modelos para describir el crecimiento son:

Caso 1, donde $k \neq 0$ y $\gamma \neq 0$

$$Y_{2j} = \left[Y_{1j}^\gamma e^{-k\Delta t_j} + \varepsilon^\gamma (1 - e^{-k\Delta t_j}) \right]^{1/\gamma}$$

Caso 2, donde $k \neq 0$ y $\gamma = 0$

$$Y_{2j} = \exp[\text{Ln}(Y_{1j}) e^{-k\Delta t_j} + \text{Ln}(\varepsilon)(1 - e^{-k\Delta t_j})]$$

Caso 3, donde $k = 0$ y $\gamma \neq 0$

$$Y_{2j} = \left(Y_{1j}^\gamma + \varepsilon^\gamma \Delta t_j \right)^{1/\gamma}$$

Caso 4, donde $k = 0$ y $\gamma = 0$

$$Y_{2j} = Y_{1j} \varepsilon^{\Delta t_j}$$

Caso 5, donde $k \neq 0$ y $\gamma \neq 1$

$$Y_{2j} = \left[Y_{1j} e^{-k\Delta t_j} + \varepsilon (1 - e^{-k\Delta t_j}) \right]$$

Dónde: Y_1 y Y_2 son las longitudes medias de la cohorte t_j y t_{j+1} , k es un parámetro de crecimiento con unidades de año⁻¹, γ está relacionada con el punto de inflexión de la curva de crecimiento, Δt es el tiempo transcurrido entre t_j y t_{j+1} , y ε en los casos 1, 2 y 5 es una longitud máxima asintótica equivalente a la L_∞ del modelo de von Bertalanffy.

Se seleccionarán los modelos ganadores, para hembras y machos, utilizando el AIC. El valor más pequeño del índice de información de Akaike corregido para muestras pequeñas (AIC_c) será interpretado como el mejor modelo y se calculará con la siguiente ecuación:

$$AIC_c = 2(k - LL) + (2k(k + 1)/(n - k - 1))$$

Donde k es el número de parámetros estimados y n es el número de observaciones.

Se realizó una prueba de Kimura para determinar si existen diferencias significativas en el crecimiento entre sexos utilizando la siguiente formula:

$$\chi^2 = -N \times \text{Ln} \left(\frac{\sum \text{RSS}_i}{\text{RSS}_p} \right)$$

Donde RSS_i es la suma de los errores al cuadrado de cada modelo ajustado por sexos separados, RSS_p es la suma de los errores al cuadrado del modelo ajustado los datos de ambos sexos juntos y K son los grados de libertad y son el número de curvas en la comparación, en este caso 2 (los sexos).

RESULTADOS.

La relación longitud-peso para las hembras de camarón café en los dos ambientes se muestra en la figura 2A, donde podemos apreciar que dentro de la bahía podemos encontrar las tallas de menor tamaño, pero que los tamaño mayores se pueden encontrar tanto dentro como fuera de la bahía.

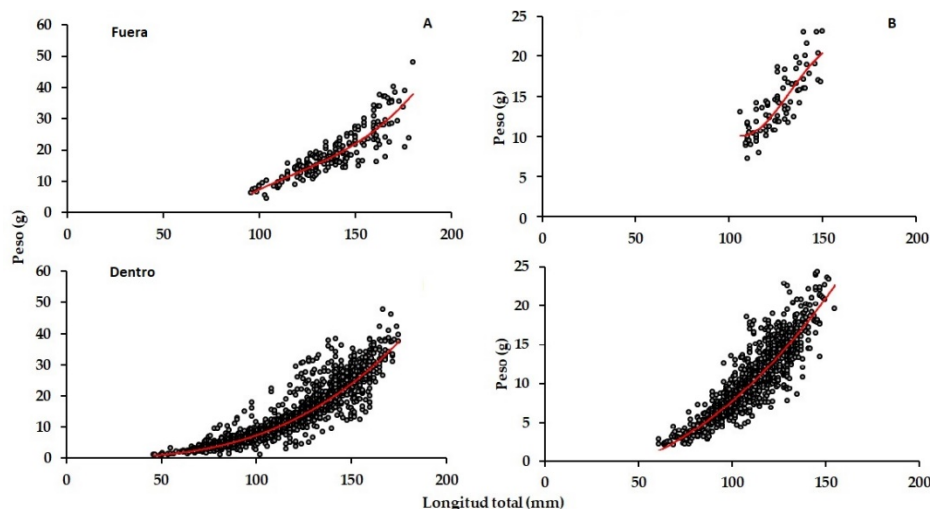


Figura 2. Relación longitud-peso para hembras y machos de *P. californiensis* en la Bahía de Navachiste.

En el caso de los machos podemos notar que estos presentan un peso menor en comparación con las hembras (figura 2B) y de igual manera encontramos organismos pequeños dentro de la bahía y organismos de mayor tamaño en ambos ambientes.

Los parámetros ajustados con IACc y WAI para machos y hembras de camarón café se presentan en la tabla 1. Se muestra que de las cuatro veces que se realizó el análisis, en dos ocasiones el modelo lineal fue el que mejor representó los datos en la mayoría de los casos, ambas para los organismos colectados fuera de la bahía; para las hembras dentro de la bahía el modelo que mejor representa los datos fue el FRS (Cuatro Segmentos) y para machos fue el TS (Dos Segmentos); sin embargo, solo en un caso el WAI fue superior al 90%, (Hembras dentro) lo que lo ubica como el mejor modelo para representar los datos; en todos los demás análisis, el WAI del mejor modelo fue inferior al 81%, lo que indica que algunos de los otros modelos candidatos puede proporcionar información complementaria importante que no considera el modelo con el IAC más bajo.

Zona	Sexo	Modelo	a1	a2	a3	a4	b1	b2	b3	b4	B1	B2	B3	AICc	WAI
Dentro	Hembras	Lineal	-11.4871				2.9254							223.1506	0.0017
		Cuadrático	-7.4960				1.2100	0.1838						220.7304	0.0056
		Cúbico	-22.3670				10.9570	-1.9405	0.1540					222.3067	0.0025
		BS	-10.6454				2.7363	3.0554			4.6250			215.7426	0.0678
		TS	4.3115	-11.4591			-1.1816	2.9196			3.9200			225.7562	0.0005
		TRS	4.3116	-11.4583	-10.7787		-1.1816	2.9194	2.7862		3.9130	4.8130		223.2305	0.0016
		FRS	4.3115	-10.6210	-12.0362	-14.1433	-1.1816	2.7320	3.0461	3.4471	3.9130	4.8130	4.9980	201.1521	99.9203
	Machos	Lineal	-10.1947				2.6496							-636.8520	0.0024
		Cuadrático	-18.3860				6.1809	-0.3801						-641.6901	0.0266
		Cúbico	164.5000				-113.1000	25.5161	-1.8715					-649.6393	1.4173
		BS	-11.0330				2.8342	2.3309			4.7143			-651.3507	3.3350
		TS	-10.4835	-8.3855			2.7108	2.2744			4.6600			-656.2890	39.3943
		TRS	-10.4809	-7.7502	-11.3312		2.7102	2.1410	2.8763		4.6540	4.9280		-656.2414	38.4686
		FRS	-10.4809	-8.7148	-9.6453	-11.1375	2.7102	2.3448	2.5252	2.8373	4.6540	4.8530	4.9310	-654.6496	17.3558
Fuera	Hembras	Lineal	-10.0185				2.6168							-129.5335	40.9444
		Cuadrático	-20.1505				6.7574	-0.4227						-128.2638	21.7015
		Cúbico	-599.2069				363.3304	-73.5603	4.9969					-128.9904	31.2089
		BS	-9.7927				2.5699	2.7258			4.9767			-125.7404	6.1453
		Lineal	-8.9668				2.3930							-72.6516	48.4658
		Cuadrático	24.0010				-11.2391	1.4087						-71.1450	22.8178
		Cúbico	3322.8999				-2056.303	423.9040	-29.0880					-70.7842	19.0513
	Machos	BS	-9.0329				2.4067	2.2077			4.9558			-68.6986	6.7150
		TS	-9.1197	-8.8958			2.4250	2.3761			4.9560			-66.7363	2.5173
		TRS	21.3115	-8.1757	-8.6745		-4.0459	2.2191	2.3345		4.7100	4.7880		-63.0914	0.4069
		FRS	21.3115	-7.8898	-0.1860	-11.7369	-4.0459	2.1614	0.6120	2.9531	4.7100	4.8290	4.8680	-57.5857	0.0259

Tabla 1. Parámetros del modelo ajustado por log AICc y WAI.

Las hembras de camarón café (Figura 3) presentan en general una tendencia de crecimiento del coeficiente de alometría en relación al incremento de talla de los organismos, presenta 3 stanzas, <123 mm, 123-145 mm y >145 mm, cabe destacar que estos organismos inician presentando un crecimiento del tipo alométrico negativo, pero este cambia para la segunda stanza en la cual ya se presenta un crecimiento alométrico positivo.

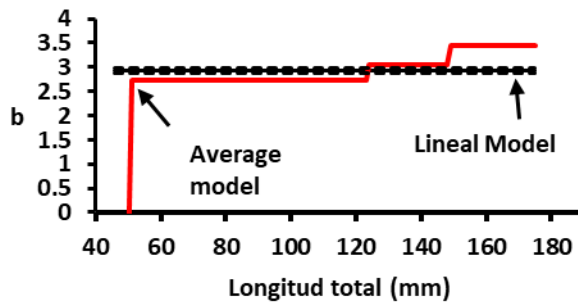


Figura 3. Coeficiente de alometría para hembras de camarón café *P. californiensis* colectadas en la Zona

En tanto los machos (Figura 4) presentan una tendencia negativa en relación al incremento de talla, se encontraron 3 stanzas diferentes; <106 mm, 106-138 mm y >138 mm, con crecimiento alométrico negativo.

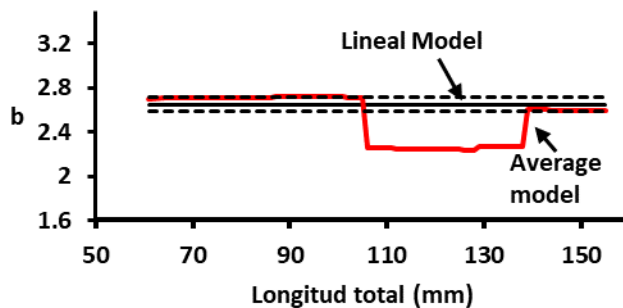


Figura 4. Coeficiente de alometría para machos de camarón café colectados en la zona.

Se obtuvieron 3,268 organismos en la bahía, de los cuales se encontraron 1952 hembras (60%) y 1316 machos (40%) en tallas de los 35 a los 235mm, en la boca se obtuvieron 327 organismos, 198 hembras (60.5%) y 129 machos (39.5%) con longitudes que varían de los 10 a los 190 mm, mientras que en la plataforma continental se encontraron 368 organismos de los cuales se encontraron 240 hembras (65%) y 128 machos (35%) variando sus tallas entre 65 y 235mm.

El análisis de la progresión modal nos indica que encontramos 7 diferentes cohortes de edad para hembras dentro de la bahía, siendo la de mayor crecimiento la que va desde los 82 mm hasta 174 mm (febrero-junio); mientras que fuera de la bahía encontramos 4 cohortes diferentes siendo la de mayor crecimiento la que va de enero a abril (96-163 mm) (Fig. 5)

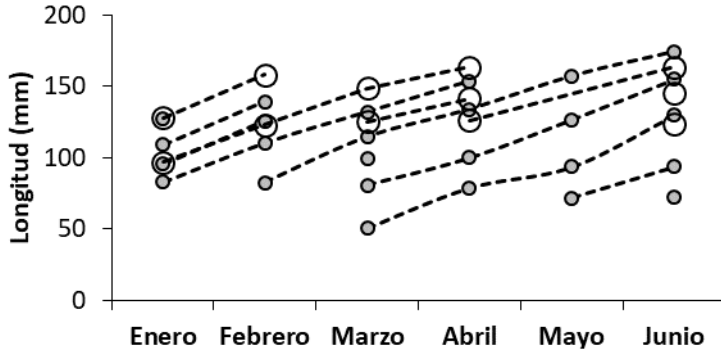


Figura 5. Progresión modal para hembras de camarón café recolectadas en la zona

Mientras que para machos dentro de la bahía encontramos 5 cohortes diferentes, siendo la de mayor crecimiento la que va de marzo a junio, en las muestras fuera de la bahía nomás se lograron identificar dos cohortes diferentes (febrero-abril y febrero-marzo) (Fig. 6).

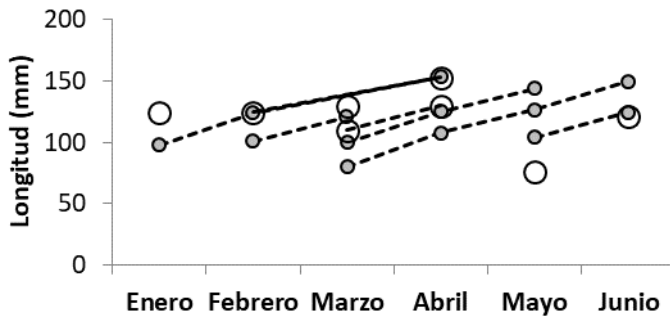


Figura 6. Progresión modal para machos de camarón café recolectados en la zona

El caso 5 del modelo de Schnute fue el que mejor seleccionado (menor AIC) para describir el crecimiento en machos de *P. californiensis* (Tabla 2), mientras que el caso 2 fue el de mejor ajuste en hembras (Tabla 3). Sin embargo, los casos 2, 3 y 5 en ambos sexos y el caso 1 en hembras presentaron una ΔAIC menor de 2, indicando que también estos casos tienen soporte en los datos. Debido a que el peso de Akaike (W_i) del mejor modelo fue menor a 90% en ambos sexos, y para fines comparativos, se obtuvo un modelo promedio con los casos 2,3 y 5 en ambos sexos para una mejor descripción de los datos.

Tabla 2. Parámetros del modelo de Schnute para machos de *P. californiensis*

Caso	AIC	ΔAIC	$e^{-0.5 \Delta AIC}$	W_i	W_i
1	62.8	3.9	0.1	0.05	
2	59.1	0.2	0.9	0.33	0.35
3	59.6	0.7	0.7	0.26	0.27
4	80.9	22.1	0.0	0.00	
5	58.9	0.0	1.0	0.36	0.38

Tabla 3. Parámetros del modelo de Schnute para hembras de *P. californiensis*.

Caso	AIC	ΔAIC	$e^{(-\frac{2\Delta AIC}{\Delta AIC})}$	Wi	Wi
1	142.72.1	0.4	0.18		
2	140.60.0	1.0	0.51	0.61472	
3	143.53.0	0.2	0.12	0.14031	
4	166.325.7	0.0	0.00		
5	142.41.8	0.4	0.20	0.24497	

Al comparar el modelo promedio de ambos sexos, se observaron diferencias altamente significativas en el crecimiento de la especie ($p=0.0097$) (Tabla 4). Mientras que no se encontraron diferencias en el crecimiento de hembras entre ambientes (Tabla 5), en los machos no se pudo observar esto debido a la escases de los datos de la zona marina.

Tabla 4. Prueba de radios de verosimilitud de Kimura, comparando el crecimiento entre sexos de *P. californiensis*

Fuente	$\Sigma(\text{error})^2$	N	K	Xi2	Probabilidad
Sexos	934.67	33	2	9.28136	0.0097
Machos	83.91	11			
Hembras	621.62	22			

Tabla 5. Prueba de radios de verosimilitud de Kimura, comparando el crecimiento entre ambientes de hembras de *P. californiensis*

Fuente	$\Sigma(\text{error})^2$	N	K	Xi2	Probabilidad
Ambientes	639.29	22	2	1.16201	0.559
Dentro	477.66	16			
Fuera	128.74	6			

DISCUSION.

El caso 5 y caso 2 del modelo de Schnute fueron los mejores seleccionados para machos y hembras respectivamente, ambos modelos presentan una curva asintótica es decir, tienen una longitud máxima, sin embargo el hecho que sean dos casos diferentes los que representan mejor el crecimiento en entre sexos en esta especie indica diferencias entre sexos, lo cual fue probado posteriormente utilizando la inferencia multimodelo, sin embargo la comparación entre ambientes no fue posible realizarse en machos por la escases de datos, pero en hembras las pruebas estadísticas indicaron que no hubo diferencias significativas, lo que quiere decir que ésta especie crece al mismo ritmo tanto dentro como fuera del sistema lagunar Bahía de Navachiste.

El sistema lagunar Bahía de Navachiste está ubicada en una zona árida semiseca, presentando salinidades que exceden la salinidad promedio de la zona marina llegando incluso a zonas

donde se presentan valores cercanos a los 45 ‰ (Escobedo-Urías, 2010) y solamente en temporadas de lluvias se presentan disminuciones de salinidad con una mínima reportada de 24.6 ‰, esto quiere decir que esta especie puede soportar grandes rangos de salinidad lo cual le permite ingresar en al menos este tipo de ambientes, además el hecho que el crecimiento no presente diferencias significativas entre ambiente marino y el interior de la laguna nos dice que *P. californiensis* no presenta una preferencia a estar dentro o fuera de un sistema lagunar con estas características. Las diferencias entre sexos ya se han documentado antes en crustáceos por lo que es normal que se presenten diferencias significativas al comparar el crecimiento entre machos y hembras.

Al aplicar la técnica multimodelo para el coeficiente promedio de alometría nos da como resultado la identificación de 3 stanzas diferentes en ambos sexos, el cual cada stanza presenta diferente tipo de alometría, por ejemplo, las hembras en su primera stanza presenta un crecimiento tipo alométrico negativo, mientras que las 2 stanzas de mayor tamaño presentan un crecimiento alométrico positivo. En los machos las 3 stanzas identificadas presentaron alometría negativa. Chaves y Rodríguez (1971), menciona que las hembras de camarón café presentan un coeficiente de alometría de 3.25 y los machos de 2.5, pero el análisis se llevó a cabo con el modelo tradicional de longitud-peso, los resultados del presente estudio para machos concuerdan con lo reportado por Chaves y Rodríguez (1971) mientras que en hembras se afirma que siempre presentan alometría positiva y aquí podemos ver que las hembras menores a 123mm presentan alometría negativa y esos cambios en el coeficiente de alometría no pudieron ser identificados con el modelo tradicional.

CONCLUSIÓN.

Se observaron diferencias en el tipo de crecimiento dentro y fuera de la Bahía, el tipo de crecimiento presentado fuera de la bahía fue alométrico negativo para todo el intervalo de tallas registrado, pero el coeficiente promedio cambio continuamente con la talla.

En el interior se observaron tres stanzas tanto en machos como en hembras. La stanza de tallas más pequeñas en hembras tuvo crecimiento alométrico negativo, pero cambio a alométrico positivo en la segunda y tercer stanza. El cambio de la primera a la segunda stanza de hembras estuvo relacionado con la madurez según lo reportado en la literatura. En los machos todas las stanzas presentaron crecimiento alométrico negativo, pero no se tiene información para explicar porque en cambio de crecimiento relativo entre las tres stanzas. Se observaron cohortes de la misma talla creciendo simultáneamente adentro como afuera de la bahía, en ambos sexos.

LITERATURA CITADA

Barnes, D., y Hampson, P. (1993). Stimulus equivalence and connectionism: Implications for behavior analysis and cognitive science. *The Psychological Record*, 43, 617-638.

Burnham K. P. y D.R. Anderson. 2002 Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. 2nd ed. Springer, New York, NY.

Chang, E. S. 1992. Endocrinology. En: Fast, A. W. and Lester, L. J. (editores). *Marine shrimp culture: principles and practices*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 53-91.

Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. 2016. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. Consultado 31 octubre 2016. En: <http://www.conapesca.gob.mx>.

Contreras, F. 1985. Lagunas costeras. Centro de Ecodesarrollo y Secretaria de Pesca, México. 235 pp.

Dall, W; B. J. Hill; P. C. Rothlisberg; D. J. Staples. 1990. The biology of the Penaeidae. En: J. H. S. Blaxter y A. J. Southward (eds.), *Advances in Marine Biology* 27: 1-489 (Academic Press London).

Del Valle-Lucero, I. y P. Martin. 1995. Interannual variation in the catch and mean length of penaeid shrimp in the lagoons and coastal waters of Sinaloa, NW Mexico, and their possible link with environmental factors. *ICES Marine Sciences Symposium*, 199: 370-378.

Escobedo-Urias D. 2010. Diagnóstico y descripción del proceso de eutrofización en lagunas costeras del norte de Sinaloa. Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. México. 274 pp.

García, S. y L. Le Reste. 1986. Ciclos vitales, dinámica, explotación y ordenación de las poblaciones de camarones peneidos costeros. *FAO Doc.Téc.Pesca*, (203):180 p.

Hendrickx, M; E. J. Salgado-Barragán y M. A. Maeda-Martínez. 1995. Abundance and diversity of macrofauna (fish and decapod crustaceans) in *Penaeus vannamei* culture ponds in Western Mexico. *Aquaculture*, 143: 61-73.

Olguín-Palacios, M. 1967. Estudio de la biología del camarón café *Penaeus californiensis* Holmes. *FAO Fisheries Report*, 57(2): 331-356.

Katsanevakis, S y D. Maravelias. 2008. Modelling fish growth: multi-model inference as a better alternative to a priori using von Bertalanffy equation. *Fish Fish.*, 9: 178-187

Romero-Sedano, C, E. A., Aragón-Noriega, M. Manzano-Sarabia, C. A. Salinas-Zavala y A. R. García-Juárez. 2004. Reproductive period of brown shrimp *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900) in the Agiabampo coastal lagoon System, Sonora/Sinaloa, México. *Ciencias Marinas*, 30(3): 465-475.

Valenzuela-Quiñónez, W; E. A. Aragón-Noriega, J. A. Arreola-Lizárraga, H. M. Esparza-Leal y C. A. Salinas-Zavala. 2007. Pacific yellowleg shrimp *Farfantepenaeus californiensis* on the continental shelf and adjacent lagoons: is there a response to change in depth? *Crustaceana*.

Zhu L, L. Li y Z. Liang. 2008. Comparison of six statistical approaches in the selection of appropriate fish growth models. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 27: 457-467.

DOSIS ÓPTIMA DE SUPLEMENTACIÓN DEL AGONISTA ADRENÉRGICO-BETA CLORHIDRATO DE ZILPATEROL (GROFACTOR®) Y RESPUESTAS BIOLÓGICAS ASOCIADAS EN OVINOS DE PELO

Arnulfo Vicente-Pérez¹, Rubén Barajas-Cruz¹, Leonel Avendaño-Reyes², Juan Eulogio Guerra-Liera³, Miguel Ángel Gastelum-Delgado³, Ulises Macias-Cruz².

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa

²Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California.

³Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa

vipa89@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la suplementación de distintas dosis de clorhidrato de zilpaterol (CZ) durante la finalización de la engorda sobre variables hematológicas y bioquímicas en ovinos de pelo. Treinta y dos corderos cruzados de razas Dorper x Pelibuey se bloquearon por peso inicial y cuatro tratamientos se asignaron aleatoriamente dentro de cada bloque: T1= dieta basal (grupo testigo), T2= dieta basal más 0.10 mg·kg⁻¹ de PV·d⁻¹ de CZ (Grofactor®, Virbac México, Guadalajara, México), T3= dieta basal más 0.20 mg·kg⁻¹ de PV·d⁻¹ de CZ y T4= dieta basal más 0.30 mg·kg⁻¹ de PV·d⁻¹ de CZ. Se tomaron dos muestras de sangre durante la mañana en los días 1, 15 y 30 del estudio mediante la técnica de venopunción de la vena yugular. Los parámetros hematológicos se determinaron en muestras de sangre fresca, mientras que los metabolitos, electrolitos y hormonas en muestras de suero. Los datos se analizaron con un diseño de bloques completos al azar. Además, se realizó un análisis de polinomios ortogonales para determinar la tendencia de las respuestas a los niveles de CZ. Los niveles de Na, concentración corpuscular media de hemoglobina, T4, y el número de plaquetas mostraron una tendencia lineal (P <0.05). También se observó una tendencia cuadrática (P <0.05) en el ancho de distribución de eritrocitos. El resto de las variables no mostraron diferencias significativas. Todos los valores obtenidos se encontraron dentro del rango de referencia, lo cual sugiere que la suplementación de CZ no modificó de forma significativa el estado fisiológico ni patológico de los corderos.

Palabras clave: Hemoglobina, corderos, metabolitos, electrolitos.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of supplementation of different doses of zilpaterol hydrochloride (CZ) on hematological and biochemical variables of finishing hair sheep. Thirty-two crossbred lambs from breeds Dorper x Pelibuey were blocked by initial weight and then four treatments were randomly assigned to the animals within blocks: T1= basal diet (control group), T2= basal diet plus 0.10 mg·kg⁻¹ of PV·d⁻¹ of CZ (Grofactor®, Virbac Mexico, Guadalajara, Mexico), T3= basal diet plus 0.20 mg·kg⁻¹ of PV·d⁻¹ of CZ, and T4= basal diet plus 0.30 mg·kg⁻¹ of PV·d⁻¹ of CZ. Blood samples were collected during the morning the days 1, 15 and 30 of the study, using the venipuncture technique from the jugular vein. The hematological parameters were determined in fresh blood samples, while metabolites, electrolytes and hormones were determined in serum samples. The data were analyzed using a randomized complete block design. In addition, an analysis of orthogonal polynomials was performed to

[determine the trend in the responses to CZ levels](#). Sodium levels, [mean corpuscular hemoglobin concentration, T4, and number of platelets showed a linear trend \(P<0.05\)](#). [A quadratic trend \(P<0.05\) was also observed in erythrocyte distribution width](#). [The rest of the variables did not show significant differences](#). [All values obtained were within the reference range, suggesting that CZ supplementation did not significantly modify the physiological and pathological status of lambs](#).

Key words: Hemoglobin, lambs, metabolites, electrolytes.

INTRIDUCCION

Desde hace varias décadas, los ovinos de pelo han representado una fuente de proteína y, en general, de alimento para la población de Latinoamérica debido a que requieren pocos cuidados en comparación a las razas de lana. Actualmente en México, la ganadería ovina destinada a la producción de carne está creciendo en forma considerable, no obstante, la demanda de animales para abasto es mayor a la que se produce en el país. Por tanto, se recurre a importaciones de ganado en pie y en canal de Estados Unidos, Nueva Zelanda y Australia, principalmente (Arteaga, 2003). La crianza de ovinos de pelo es una alternativa que se ha utilizado para cubrir estas demandas de carne debido a que requiere menos cuidados en comparación con razas de lana. Además, tienen la peculiaridad de adaptarse, reproducirse y producir bajo cualquier sistema de producción. Esta alternativa ha sido muy apropiada para mantener la producción de cordero durante todo el año, ya que presentan baja estacionalidad reproductiva (Gastelum-Delgado *et al.*, 2015). Sin embargo, la engorda de este tipo de ovinos tiene como desventaja su limitada ganancia de peso (Mondragon *et al.*, 2010). Para esto, los engordadores complementan con compuestos como promotores del crecimiento que ayudan a obtener animales más eficientes para producir carne (Beermann, 2009). Los agonistas adrenérgicos-beta (AA- β) representan una atractiva estrategia que ha impactado positivamente sobre la producción de los corrales de engorda de ovinos (Avendaño-Reyes *et al.*, 2011). Comparando resultados de la evaluación de distintos AA- β (Clorhidrato de zilpaterol, clorhidrato de ractopamina, terbutalina, isoproterenol, etc.), se ha encontrado que la suplementación con clorhidrato de zilpaterol (CZ) es buena opción en la engorda de pequeños rumiantes (Partida *et al.*, 2015). No obstante, los resultados que se han encontrado son contradictorios en términos de rendimientos (Salinas-Chavira *et al.*, 2004; López-Carlos *et al.*, 2010; Mondragón *et al.*, 2010; Avendaño-Reyes *et al.*, 2011) y características de la canal (Estrada-Angulo *et al.*, 2008; López-Carlos *et al.*, 2010; Macías-Cruz *et al.*, 2010). A pesar de ello, la suplementación de CZ en la dieta promueve cambios fisiológicos, metabólicos, hormonales y hematológicos que pueden comprometer el estado de salud del animal (Frese *et al.*, 2016). Las respuestas fisiológicas por la adición de AA- β varían según la especie, dosis, duración y tiempo de retiro (Frese *et al.*, 2016). En este sentido, existen pocos estudios dirigidos a evaluar el efecto en la salud de los animales por la adición de CZ, y que incluyan el análisis de componentes bioquímicos o hematológicos en ovinos de pelo, ya que la mayoría de las investigaciones se han centrado en sus efectos en la productividad en corral, rasgos de la canal y calidad de la carne. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la suplementación de distintas dosis del AA- β genérico clorhidrato de zilpaterol sobre algunas variables hematológicas y bioquímicas en ovinos de pelo finalizados en corral.

HIPOTESIS

La hematología y bioquímica sanguínea en ovinos de pelo en la última fase de finalización responden de manera diferenciada a distintas dosis de clorhidrato de zilpaterol en la dieta.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la dosis idónea de un agonista adrenérgico-beta (Grofactor) en ovinos de pelo productores de carne, sin afectar las concentraciones de metabolitos y hormonas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de dosis de Grofactor (0, 10, 20 y 30 mg.kg⁻¹) en las concentraciones hematológicas en ovinos de pelo.

Determinar el efecto del nivel de adición de clorhidrato de zilpaterol en la concentración de algunos metabolitos en sangre de ovinos de pelo en engorda.

Comparar la influencia del nivel de suplementación de CZ en las concentraciones de metabolitos y hormonas sanguíneas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio: El estudio se realizó durante la época otoño-invierno en la Unidad Experimental Ovina del Instituto de Ciencias Agrícolas, perteneciente a la Universidad Autónoma de Baja California, localizada en el Valle de Mexicali, Baja California, México (32.8° N, 114.6° O). Las condiciones climáticas predominantes en esta región se clasifican como Desierto de Sonora, caracterizadas por un clima extremadamente seco y caliente, con temperaturas máximas en verano ≥ 42 ° C y mínimas durante el invierno ≤ 0 ° C; la precipitación anual es escasa, promediando 85 mm por año (García, 1985).

Animales, manejo y tratamientos: Se utilizaron 32 corderos de pelo cruzados de razas Dorper x Pelibuey con peso promedio de 29.3 ± 0.22 kg y edad entre 5 y 6 meses. Se formaron grupos de 4 corderos de acuerdo al peso inicial y se les asignaron aleatoriamente uno de cuatro tratamientos: T1= dieta basal (grupo testigo); T2= dieta basal más 0.10 mg.kg⁻¹ de PV.d⁻¹ de CZ (Grofactor®, Virbac México, Guadalajara, México); T3= dieta basal más 0.20 mg.kg⁻¹ de PV.d⁻¹ de CZ y T4= dieta basal más 0.30 mg.kg⁻¹ de PV.d⁻¹ de CZ. Los corderos se alojaron en corraletas individuales provistas de comederos, bebedero y sombra. El alimento se ofreció dos veces por día (7:00 y 15:00 h) en proporción 40:60. La ración ofrecida consistió en grano de trigo molido (60%), heno de alfalfa (17.5%), paja de trigo (11%), harina de soya (7%), aceite de soya (2%), piedra caliza (1%), fosfato dicálcico (1%) y 0.5% de sal común; esta ración fue formulada para aportar 15% de proteína cruda y 2.9 Mcal de EM kg⁻¹ de MS (Avenidaño-Reyes *et al.*, 2018). Para garantizar el consumo del CZ, éste se ofreció por la mañana antes de ofrecer la dieta basal. En el día 30 de la prueba, el CZ se retiró siguiendo con las indicaciones del producto.

Registro de variables: Para el análisis de metabolitos, electrolitos y componentes hematológicos se colectaron muestras de sangre en tubos vacutainer de 10 y 4 mL mediante la técnica de venopunción en la vena yugular. La colecta de sangre se realizó antes de ofrecer la

dieta por la mañana (06:00 h) tres veces: en la fase inicial, intermedia y final de la prueba (días 1, 15 y 30). Para el análisis de componentes hematológicos se utilizaron muestras de sangre fresca obtenidas en tubos de 4 mL que contenían EDTA-K₂ y fueron transportadas inmediatamente al laboratorio para su análisis mediante el uso de un equipo automatizado (Auto Hematology Analyzer, MINDRAY, BC-2800 Vet; Shenzhen, China). Además, se colectaron muestras de sangre en tubos de 10 mL que se centrifugaron a 3500 rpm a 10° C durante 15 min; posteriormente se separó el suero por duplicado en viales de 2 ml y se almacenaron a -20 ° C para el posterior análisis de metabolitos (glucosa, colesterol, urea, triglicéridos y proteína total), electrolitos (Na, K y Cl) y hormonas (T3 y T4). Los metabolitos se determinaron con un equipo de química sanguínea (Model DT-60, Johnson Co.; High Wycombe, UK), mientras que los electrolitos con un equipo automatizado (Electrolyte Analyzer LW E60A; Landwind Medical; Shenzhen, China). Por último, la concentración de hormonas se llevó a cabo con un equipo automatizado para pruebas de Elisa y pruebas de Quimioluminiscencia (CLIA) mediante un equipo Thunderbolt® Analyzer (Davis, CA, USA).

Análisis estadístico: Las variables de respuesta se sometieron a un análisis de varianza bajo un diseño de bloques completamente al azar. Se realizó un análisis de polinomios ortogonales para determinar la tendencia en las respuestas a través de los niveles de suplementación del AA-β. Se declararon significancias a un nivel de probabilidad de 0.05 mediante el uso del PROC MIXED de SAS. Dado que la tendencia cúbica no resultó significativa para ninguna variable de respuesta analizada, fue omitida de los cuadros de resultados. Las significancias entre 0.05 y 0.10 se consideraron como tendencias. Todos los datos fueron procesados en el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo ya fue enviado para su revisión y posible publicación en la revista mexicana de ciencias pecuarias bajo el nombre de: *“Efecto de la suplementación de clorhidrato de zilpaterol en el perfil bioquímico y hematológico de ovinos de pelo engordados en corral”*.

La suplementación de AA-β en la dieta y sus efectos negativos en la salud y bienestar animal han sido una de las preocupaciones más importantes en el sector agropecuario (FDA, 2006). Sin embargo, los efectos de la adición del CZ en la dieta se han centrados en el rendimiento animal y características de la canal, mientras que los efectos de este promotor del crecimiento en la salud y bienestar se atienden solo de forma superficial (Arcella, *et al.*, 2016). A pesar de que se han encontrado mayor porcentaje de morbilidad en ganado bovino suplementado con AA-β en la etapa de finalización en corral (Loneragan, Thomson y Scott, 2014), no se han encontrado resultados contundentes ni consistentes que demuestren que dicho producto afecte de forma negativa los componentes bioquímicos, hematológicos y de salud en general en ovinos que han sido tratados con CZ.

Metabolitos sanguíneos: Los resultados sobre la suplementación de distintas dosis (0, 10, 20, 30 mg/kg Pv⁻¹ d⁻¹) de CZ sobre metabolitos sanguíneos en corderos de engorda se muestran en el Cuadro 1. Los niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos, glucosa, proteína total y urea no fueron afectados ($P < 0.10$) por la suplementación de las distintas dosis de CZ en la dieta.

Además, los valores obtenidos se encuentran dentro del rango de referencia para ovinos (Radostits *et al.*, 2002; Kaneko, Harvey y Bruss, 2008).

Cuadro 1. Concentraciones séricas de metabolitos en ovinos de pelo en respuesta a distintas dosis de clorhidrato de zilpaterol.

*^{ab} Promedios con distinta literal en hilera difieren ($P < 0.05$), EE: Error Estándar; Col: colesterol; Trig: Triglicéridos; Glu: Glucosa; PT: Proteína total; L: Lineal; C: Cuadrático.

Resultados similares fueron reportaron por López-Carlos *et al.* (2010) al no encontrar diferencias en los niveles de proteína total, glucosa y triglicéridos cuando suplementaron dosis similares de CZ a las usadas en el presente estudio con ovinos cruzados Dorper x Katahdin. Por otro lado, Vahedi *et al.* (2014) reportaron que la suplementación de 20 mg/kg PV/d⁻¹ de CZ a ovinos de lana no modificó los niveles sanguíneos de glucosa, triglicéridos, proteína total y colesterol, encontrando sólo una disminución en los niveles de urea. Por su parte, Mohammadi *et al.* (2006) reportan que, en ovinos de lana, la adición de este AA- β a la dieta no modificó los niveles de triglicéridos. Además, algunos autores han encontrado que la suplementación de CZ en bovinos no modificaron los niveles de metabolitos sanguíneos (Bibber-Krueger *et al.*, 2015; Frese *et al.*, 2016). Del mismo modo, Hatefi *et al.* (2017), en machos caprinos, encontraron que la suplementación de CZ disminuyó los niveles plasmáticos de glucosa y colesterol, sin afectar los niveles de triglicéridos.

La administración de AA- β al organismo trae como consecuencia inmediata un incremento del proceso de gluconeogénesis y, consecuentemente, un aumento inminente de los niveles plasmáticos de glucosa (Frese *et al.*, 2016). Sin embargo, se estima que el aumento inicial en

Variables	Dosis de CZ (mg*kg PV)				EE	Efectos	
	0	10	20	30		L	C
Col, mg/dL	49.4	46.7	55.4	50.5	3.02	0.36	0.71
Trig, mg/dL	26.0	26.7	25.8	26.4	1.40	0.95	0.98
Glu mg/dL	64.3	62.6	65.7	61.8	4.12	0.83	0.82
PT mg/dL	6.80	6.85	6.82	7.03	0.11	0.17	0.47
Urea mg/dL	38.3	35.4	40.9	38.5	1.69	0.40	0.91

las concentraciones de glucosa desaparece conforme se incrementa el tiempo de suplementación, hasta retornar a concentraciones normales debido a una disminución de sensibilidad tisular (Zimmerli y Blum, 1990), efecto que se pudo haber presentado en el presente estudio, donde los niveles de metabolitos retornaron a sus concentraciones normales. Esto se afirma por el hecho de que los metabolitos asociados al estado energético y proteico no fueron afectados ($P < 0.05$) por la adición de las distintas dosis de CZ (Grofactor®) en la dieta, indicando de esta forma que los corderos no modificaron ni comprometieron su homeostasis y metabolismo. Por lo anterior, es posible considerar, de forma inicial, que el uso del AA- β Grofactor® no tuvo efectos perjudiciales para la salud de los ovinos. Sin embargo, aún son pocos los estudios que se han realizado sobre el efecto de los AA- β en los niveles de metabolitos sanguíneos, y más aún, los resultados obtenidos aún son inconsistentes (Hatefi *et al.*, 2017).

Electrolitos y hormonas tiroideas: De acuerdo a los estudios reportados en la literatura, los niveles normales de K se encuentran entre 3.5 a 6.5 mEq/L; los de Na entre 135 a 147 mEq/L y los de Cl entre 98 a 106 mEq/L (Radostits *et al.*, 2002; Kaneko, Harvey y Bruss, 2008). Los resultados de este estudio de suplementar CZ en distintas dosis (0, 10, 20, 30 Mg/kg Pv⁻¹ d⁻¹) sobre las concentraciones de electrolitos sanguíneos y hormonas tiroideas en corderos de engorda se muestran en el Cuadro 2. La suplementación de CZ a corderos de engorda mostraron una reducción ($P<0.01$) en los niveles de Na, además, K y tiroxina plasmática mostraron una tendencia lineal ($P<0.10$) con el incremento de los niveles de CZ en la dieta. Por otro lado, se observó que los niveles de Cl y T3 en suero no fueron afectados por los distintos tratamientos.

Cuadro 2. Concentraciones séricas de electrolitos y hormonas tiroideas en ovinos de pelo en

Variables	Dosis de CZ (mg*kg PV)				EE	Tendencia	
	0	10	20	30		L	C
Na, mmol	139.7 ^a	138.2 ^{ab}	138.5 ^{ab}	137.1 ^b	0.584	<0.01	0.94
Cl, mmol	113.3	114.3	113.3	113.9	0.489	0.95	0.84
K, mmol	6.29 ^a	5.85 ^{ab}	6.31 ^a	5.57 ^{ab}	0.181	0.10	0.51
T3, ng/mL	1.40	1.19	1.32	1.25	0.728	0.33	0.38
T4 ng/mL	2.92	3.06	2.40	2.29	0.343	0.10	0.74

respuesta a distintas dosis de clorhidrato de zilpaterol.

*^{ab} Promedios con distinta literal en hilera difieren ($P < 0.05$), K: Potasio; Na: Sodio; Cl: Cloro; T3: triiodotironina; T4: Tiroxina; L: Lineal; C: Cuadrático.

Los AA- β se consideran excelentes redistribuidores de nutrientes a favor de la formación de músculo esquelético y reducción de fijación de grasa en la canal (Nourozi, *et al.*, 2008), no obstante, es posible que afecten la concentración de diversos componentes bioquímicos involucrados en el desarrollo muscular y adiposo (Chikhou *et al.*, 1991). El efecto cuadrático observado en las concentraciones de Na se da en función de los niveles crecientes de suplementación en la dieta de CZ. La adición de 10 mg de CZ observó un decremento de Na, mientras que la suplementación de 20 mg de CZ mantuvo los niveles sanguíneos de Na. Por otro lado, la adición de 30 mg de CZ a la dieta disminuyó de forma considerable los niveles de este mismo electrolito. A pesar de que se encontró diferencia significativa en los niveles de Na plasmático entre tratamientos, todos los valores se encuentran dentro del rango de referencia normal para ovinos (Radostits *et al.*, 2002; Kaneko, Harvey y Bruss, 2008), lo cual sugiere que los animales tratados mantuvieron su presión osmótica y equilibrio ácido-base en el organismo, sin síntoma importante de estrés alguno.

Potasio es el principal catión intracelular, extensamente regulado, debido a que los pequeños cambios de cantidades pueden tener efectos marcados en la función del organismo (Russell y Roussel, 2007); además, juega un papel importante en la regulación del agua dentro y fuera de la célula. Por tanto, mantener niveles óptimos de K plasmático es importante para el óptimo funcionamiento del organismo, no obstante, Buntyn *et al.* (2017) encontraron que la suplementación de CZ promueve la disminución de niveles sanguíneos de K, resultados que pueden deberse a un aumento en la deposición de músculo magro durante la suplementación con CZ. Mariam *et al.* (2004) mencionan que la concentración más alta de K se encuentra en la

carne magra de cordero por ser un elemento esencial en el mantenimiento de la integridad de la membrana. Esto podría explicar que, a mayor producción de masa muscular, menor cantidad de grasa y, por ende, conlleva a una disminución de líquidos y K plasmático. A pesar de ello, en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en los niveles de K entre animales tratados y no tratados con CZ, resultados que coinciden con Frese *et al.* (2016), quienes reportaron que no encontraron diferencia significativa en los niveles de K al suplementar los AA-β clorhidrato de zilpaterol y clorhidrato de ractopamina.

Adicionalmente, no se ha reportado ningún estudio donde la ingestión de AA-β provoque una disminución de Na plasmático en ovinos, sin embargo, en ganado equino se ha reportado que la disminución de Na sanguíneo por efecto de la suplementación de AA-β puede darse en casos muy extremos, ya sea por la pérdida durante la sudoración profusa o por deterioro del transporte renal de Na; incluso, la hipocloremia puede estar asociada con la liberación endógena de glucocorticoides o insuficiencia renal (Wagner *et al.*, 2008), efecto que no ocurrió en el presente estudio ni ha sido reportado en ningún estudio realizado en ovinos suplementados con CZ. Por su parte, Frese *et al.* (2016), Buntyn *et al.* (2017) reportan que novillos y vaquillas en finalización de la engorda presentaron similares concentraciones de Na adicionando los AA-β CZ y clorhidrato de ractopamina en la dieta, resultados fueron atribuidos a la disponibilidad y consumo a libre acceso de agua de los animales.

Por otro lado, se ha encontrado que las hormonas tiroxina (T4) y triiodotironina (T3) no muestran variación durante tratamientos agudos o crónicos con AA-β (O'Connor *et al.*, 1991), resultados que coinciden con los del presente estudio al no encontrar efecto en T3 por la suplementación de CZ durante 30 días. No obstante, Hatefi *et al.* (2017) reportaron que los niveles de T3 y T4 aumentaron después de la administración crónica de distintos AA-β en ovinos, resultados que pudieron haberse dado por el aumento en la tasa lipolítica. En este sentido, Mohammadi *et al.* (2006) mencionan que las hormonas tiroideas se encuentran ampliamente relacionadas con el incremento de lipólisis. Sin embargo, los reportes sobre los efectos que tiene la administración de AA-β sobre los componentes bioquímicos y hormonas sanguíneas siguen siendo inconsistentes y escasos.

Componentes hematológicos: La cantidad y concentración sanguínea circulante en el organismo marcan la pauta para el equilibrio y funcionamiento fisiológico sano de un animal, sin embargo, agentes externos al organismo pueden modificar las concentraciones óptimas de estos componentes y, consecuentemente, llevarlos a un desequilibrio fisiológico, afectando finalmente su bienestar. Por tanto, la evaluación de componentes hematológicos es uno de los principales indicadores del estado fisiológico y patológico de los seres vivos. Los resultados de la suplementación de distintas dosis de CZ sobre las concentraciones de variables hematológicas se muestran en el Cuadro 3. Las concentraciones de CCMH mostraron una tendencia lineal ($P < 0.03$), observándose mayor concentración de CCMH en los corderos no suplementados en comparación con los suplementados con Grofactor; se observó también que la concentración de ADE fue más elevada en corderos suplementados con 10 y 20 mg/kg.Pv⁻¹d⁻¹ en comparación con los demás tratamientos; además, se observó una tendencia lineal en los niveles de plaquetas, de tal forma que al incrementar los niveles de CZ en la dieta, las concentraciones de plaquetas incrementan. Para el resto de los componentes hematológicos no se observaron diferencias entre tratamientos.

Cuadro 3. Concentraciones séricas de componentes hematológicos en ovinos de pelo en respuesta a distintas dosis de clorhidrato de zilpaterol.

Variables	Dosis de CZ (mg*kg PV)				EE	Tendencia	
	0	10	20	30		L	C
Gr, X 10 ¹² L	11.90	12.21	11.32	11.27	0.457	0.16	0.70
Hgb, g/dl	10.68	10.67	10.19	10.25	0.374	0.26	0.91
Htc, %	35.60	36.30	35.00	34.8	1.15	0.48	0.68
VCM, X 10 ¹⁵ L	30.21	30.27	31.30	31.90	0.870	0.12	0.78
HCM, Pg.	9.10	8.79	8.98	9.24	0.205	0.51	0.17
CCMH, g/DI	29.96 ^a	29.3 ^{ab}	28.8 ^b	29.2 ^{ab}	0.303	0.03	<0.05
ADE, %	17.96 ^{ab}	18.70 ^a	18.62 ^a	17.58 ^b	0.375	0.46	<0.05
Pqt, X 10 ⁹ L	445.3	517.0	549.7	575.5	46.07	<0.05	0.65

*^{ab} Promedios con distinta literal en hilera difieren (P < 0.05), Gr: Glóbulos rojos; Hgb: Hemoglobina; Htc: Hematocrito; VCM: Volumen corpuscular medio; HCM: Hemoglobina corpuscular medio; CCMH: Concentración corpuscular media de hemoglobina; ADE: Ancho de distribución de eritrocitos; ADE: Ancho de distribución de eritrocitos; Pqt: Plaquetas; L: Lineal; C: Cuadrático.

Una posible explicación a la disminución de CCMH en el torrente sanguíneo es que la utilización de promotores de crecimiento reduce marcadamente la cantidad de tejido graso mediante lipólisis (Bibber-Krueger *et al.*, 2015), promoviendo de esta manera la vasodilatación periférica mediante la adición de ácidos grasos y glicerol al torrente sanguíneo durante este proceso, lo cual provoca el incremento en el volumen plasmático de rumiantes (Byrem, Beermann y Robinson, 1998) y no rumiantes (Buntyn *et al.*, 2016). Adicionalmente, los AA-β promueven el incremento del consumo de agua en los animales, lo cual incrementa aún más la vasodilatación, aumentando así el volumen del torrente sanguíneo. Algunos estudios han confirmado que la suplementación de AA-β ejercen efectos sobre algunos componentes hematológicos en rumiantes (Buntyn *et al.*, 2016; Hatefi *et al.*, 2017), mediante modificaciones en sus procesos fisiológicos como vasodilatación y la acción cardiovascular (Shirato *et al.*, 2007). Dentro de los efectos cardiovasculares que se presentan por la suplementación con AA-β se encuentra el incremento de las frecuencias respiratoria y cardiaca de los animales. Contrariamente a lo anterior, se ha descrito que el incremento en la frecuencia respiratoria conlleva a un aumento en los niveles de los componentes de glóbulos rojos en el torrente sanguíneo (Vicente-Pérez *et al.*, 2018), debido a una alta demanda de oxígeno para activar mecanismos de disipación de calor por el incremento del calor metabólico.

En este sentido, Boyd *et al.* (2015) encontraron que la temperatura del rumen es más baja en novillos suplementados con CZ en comparación con el grupo testigo. Los resultados obtenidos fueron atribuidos a un incremento en la frecuencia respiratoria en animales tratados, como un mecanismo del animal para disminuir el calor acumulado por el aumento de la fermentación ruminal. Por lo anterior, los resultados de este estudio sugieren que la suplementación de 10 mg de CZ incrementó la lipólisis, sin embargo, la suplementación con mayores dosis intensificaría la producción de calor metabólico, por lo cual el animal incrementaría la frecuencia

respiratoria como mecanismo para mantener la temperatura corporal. Sin embargo, ello traería como consecuencia la vasodilatación, causando una disminución inminente de los glóbulos rojos. Resultados similares fueron reportados por Hateffi *et al.* (2017), quienes encontraron que la suplementación de 20 mg de CZ disminuyó los niveles de hematocrito y hemoglobina, resultados que se atribuyeron al aumento de la frecuencia respiratoria. Sin embargo, los efectos de los AA- β sobre componentes hematológicos aun no son claros debido a que existen pocos estudios con relación al tema.

El incremento en plaquetas por la adición de CZ en la dieta pudo haber ocurrido por un efecto de trombocitosis sanguínea, incrementando la concentración plaquetaria como respuesta a las lesiones que puedan ocasionar el incremento de vasos sanguíneos y al desbalance homeostático del organismo (Kaneko, Harvey y Bruss, 2008). Resultados similares fueron obtenidos por Wagner *et al.* (2008) al encontrar en equinos niveles elevados de plaquetas al adicionar 17 mg de CZ. No obstante, no se encontraron estudios en rumiantes donde evalúen los niveles plaquetarios al ser suplementados con AA- β . A pesar de lo anterior, los valores hematológicos de todas las variables obtenidas en este estudio se encontraron dentro del rango de referencia (Ahmadi-Hamedani *et al.*, 2016).

Frese *et al.* (2016) realizaron un estudio donde evaluaron el efecto de la adición de zilpaterol y ractopamina en la dieta de bovinos en finalización sobre variables relacionadas con aspectos cardiovasculares, concluyendo que la suplementación de estos dos AA- β no afectó la tasa de arritmias, aunque hubo un leve aumento en la frecuencia cardíaca el cual finalmente se mantuvo dentro de los rangos de referencia señalados por la literatura para este tipo de ganado. No obstante estos resultados, es importante continuar con este tipo de estudios clínicos para determinar si estos productos representan un riesgo tanto para el bienestar animal como para la salud humana.

CONCLUSIONES

Se observaron ciertas tendencias y pequeñas diferencias en Na y en las variables hematológicas número de plaquetas, concentración corpuscular media de hemoglobina y ancho de distribución de eritrocitos. No obstante, todas las variables sobre hematología y bioquímica sanguínea se encontraron dentro del rango de referencia en respuesta a la suplementación de las dosis crecientes (0.10, 0.20, 0.30 mg/kg PV⁻¹) de clorhidrato de zilpaterol (Grofactor®). Estos resultados que sugieren que el organismo de los animales experimentales no modificó su estado acido-básico ni su homeostasis celular, además de que sus estados metabólico, fisiológico y patológico no fueron comprometidos por efecto de la adición de clorhidrato de zilpaterol en la dieta.

LITERATURA CITADA.

Arteaga C.J.D. 2003. La industria ovina en México: Memoria del 1er Simposium Internacional de Ovinos de Carne. Desafíos y oportunidades para la ovinocultura en México ante los nuevos esquemas de mercado abierto. Pachuca de Soto, Hidalgo. pp 1-7.

Gastelum-Delgado M. A., Avendaño-Reyes L., Álvarez-Valenzuela F.D., Correa-Calderón A., Meza-Herrera C.A., Mellado M., Macías-Cruz U. 2015. Circannual estrous behavior in

Pelibuey ewes under arid conditions of Northwestern of Mexico. [Rev. Mex. Cienc. Pecu.](#) 6(1): 109-118. ISSN: 2448-6698.

Mondragón J., Domínguez-Vara I., Pinos-Rodríguez J. M., González M., Bórquez J. L., Domínguez A., Mejía M. L. 2010. Effects of feed supplementation of zilpaterol hydrochloride on growth performance and carcass traits of finishing lambs. *Acta Agric. Scand. Sect. A-Anim. Sci.* 60 (1): 47-52. ISSN 0906-4702; DOI: 10.1080/09064701003605158.

Beermann D. H. 2009. ASAS Centennial paper: A century of pioneers and progress in meat science in the United States leads to new frontiers. *J. Anim. Sci.* 87:1192-1198. PMID:19066248; DOI:10.2527/jas.2008-1542.

Avendaño-Reyes L., Macías-Cruz U., Álvarez-Valenzuela F. D., Águila-Tepato E., Torrentera-Olivera N. G., Soto-Navarro S. A. 2011. Effects of zilpaterol hydrochloride on growth performance, carcass characteristics, and wholesale cut yield of hair-breed ewe lambs consuming feedlot diets under moderate environmental conditions. *J. Anim. Sci.* 2011; 89: 4188-4194; DOI:10.2527/jas.2011-3904

Partida-de-la-Peña J. A., Casaya-Rodríguez T. A., Rubio-Lozano M S., Méndez-Medina R. D. 2015. Effect of zilpaterol hydrochloride on the carcass characteristics of Katahdin lamb terminal crosses. *Vet. Méx.* 2 (2): 2448-6760. ISSN: 2448-6760; DOI: [10.21753/vmoa.2.2.346](#).

Salinas-Chavira J., Ramírez R. G., Domínguez-Muñoz M., Palomo-Cruz R., López-Acuña V. H. 2004. Influence of zilpaterol hydrochloride on growth and carcass characteristics of Pelibuey lambs. *J. Appl. Anim. Res.* 26(1): 13-16; DOI: 10.1080/09712119.2004.9706497.

López-Carlos M. A., Ramírez R. G., Aguilera S. J., Aréchiga C. F., Méndez L. F., Rodríguez H., Silva JM. 2010. Effect of ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride on growth, diet digestibility, intake and carcass characteristics of feedlot lambs. *Livest. Sci.* 131(1): 23-30; DOI:10.1016/j.livsci.2010.02.018.

Estrada-Angulo A., Barreras-Serrano A., Contreras G., Obregon J.F., Robles-Estrada J. C., Plascencia A., Zinn R. A. 2008. Influence of level of zilpaterol hydrochloride supplementation on growth performance and carcass characteristics of feedlot lambs. *Small Ruminant. Res.* 80 (1-3):107-110. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2008.09.006.

Macías-Cruz U., Álvarez-Valenzuela F. D., Torrentera-Olivera N. G., Velázquez-Morales J. V., Correa-Calderón A., Robinson P. H., Avendaño-Reyes L. 2010. Effect of zilpaterol hydrochloride on feedlot performance and carcass characteristics of ewe lambs during heat-stress conditions. *Anim. Prod. Sci.* 50: 983–989; <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.02.018>.

Frese D.A., Reinhardt C. D., Bartle S. J., Rethorst D. N., Bawa B., Thomason J. D., Loneragan G. H., Thomson D. U. 2016. Effect of ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride on cardiac electrophysiologic and hematologic variables in finishing steers. [J. Am. Vet. Med. Assoc.](#) 249: 668-677. PMID:27585105; DOI: 10.2460/javma.249.6.668.

García, E. 1985. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen. 3ra. Edición, México, D.F. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México.

Avendaño-Reyes L., Torrentera N., Correa-Calderón A., López-Rincón G., Soto-Navarro S. A., Rojo-Rubio R., Guerra-Liera J. E., Macías-Cruz U. 2018. Daily optimal level of a generic beta-agonist based on zilpaterol hydrochloride for feedlot hair lambs. *Small Ruminant. Res.* 165: 48-63; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.06.014>.

SAS Institute Inc.2004. SAS/STAT® User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

- FDA. 2006.** New Animal Drug Application (NADA) 141-258. ZILMAX (Zilpaterol Hydrochloride) Type A Medicated Article for Cattle Fed in Confinement for Slaughter. Approval date: 10 August.
- Arcella D., Baert K., Binaglia M., Gervelmeyer A., Innocenti M.L., Ribo O., Steinkellner H., Verhagen H. 2016.** Review of proposed MRLs, safety evaluation of products obtained from animals treated with zilpaterol and evaluation of the effects of zilpaterol on animal health and welfare. EFSA; 14 (9): 4579; DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4579>.
- Loneragan G. H., Thomson D. U., Scott H. M. 2014.** Increased mortality in groups of cattle administered the β -Adrenergic agonists ractopamine hydrochloride and zilpaterol hydrochloride. PLoS ONE; 9(3): e91177; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091177>.
- Radostits O. M., Gay C. C., Blood D. C., Hinchcliff K. W. 2002.** Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9th Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro; 1735p.
- Kaneko J.J., Harvey J. W., Bruss M. L. 2008.** Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed. Academic Press; San Diego (USA); 916 p.
- Vahedi V., Towhidi A., Zare –Shahneh A., Sadeghia M., Zamanic F., Dunshea F. R. 2014.** Effects of β -agonist zilpaterol hydrochloride feeding and supplementation period on growth and carcass characteristics of Lori-Bakhtiari lambs. Small Ruminant. Res. 467 2: 7; <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.01.005>.
- Mohammadi M., Abazari M., Nourozi M. 2006.** Effects of two beta-adrenergic agonists on adipose tissue, plasma hormones and metabolites of Moghani ewes. Small Ruminant. Res. 63: 84–90; DOI:10.1016/j.smallrumres.2005.02.005
- Bibber-Krueger C. L. V., Miller K. A., Parsons G. L., Thompson L. K., Drouillard J. S. 2015.** Effects of zilpaterol hydrochloride on growth performance, blood metabolites, and fatty acid profiles of plasma and adipose tissue in finishing steers. J. Anim. Sci. 93:2419–2427; DOI:10.2527/jas2014-8771.
- Hatefi A., Towhidi A., Zali A., Zeinoaldini S., Ganjkanlou M., Plascencia A. 2017.** Effects of dietary zilpaterol hydrochloride (β 2-agonist) supplementation on finishing castrated male goats: metabolic endocrine, blood constituents, plasma volume, respiratory rate and cardiac changes. J. Appl. Anim. Res. 45(1): 447-453. ISSN: 0971-2119; DOI:10.1080/09712119.2016.1209211.
- Zimmerli U., Blum J. 1990.** Acute and longterm metabolic, endocrine, respiratory, cardiac and skeletal muscle activity changes in response to perorally administered β -adrenoceptor agonists in calves¹. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 63: 157-172. ISSN 0931-2439.
- Nourozi M, Abazari M, Raisianzadeh M, Mohammadi M, Zare-Shahne A. 2008.** Effect of terbutaline and metaproterenol (two beta-adrenergic agonists) on performance and carcass composition of culled Moghani ewes. Small Ruminant. Res. 74: 72-77. ISSN : 0921-4488.
- Chikhou F. H., Moloney A. P., Austin F. H., Roche J. F., Enright W. J. 1991.** Effects of cimaterol administration on plasma concentrations of various hormones and metabolites in Friesian steers. Domest. Anim. Endocrinol. 8: 471-480. PMID 1686220; [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(91\)90016-D](https://doi.org/10.1016/0739-7240(91)90016-D).
- Russell K.E., y Roussel A. J. 2007.** Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. Vet. Clin. Food. Anim. 23: 403-426. PMID: 17920455; DOI:[10.1016/j.cvfa.2007.07.003](https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.07.003).
- Buntyn J.O., Steffen D., Burdick-Sanchez N. C., Sieren S. E., Jones S. J., Erickson G. E., Carroll J. A., Schmidt T. B. 2017.** Serum blood metabolite response and evaluation of select

organ weight, histology, and cardiac morphology of beef heifers exposed to a dual corticotropin-releasing hormone and vasopressin challenge following supplementation of zilpaterol hydrochloride. *J. Anim. Sci.* 95:5327–5338. PMID:29293749; DOI:10.2527/jas2017.1913.

Mariam I., Iqbal S., Nagra S. S. A. 2004. Distribution of some trace and macrominerals in beef, mutton and poultry. *Int. J. Agric. Biol.* 6(5): 816–820. ISSN: 1560–8530.

Wagner A., Mostrom S., Hammer C., Thorson J. F., Smith D. J. 2008. Adverse effects of zilpaterol administration in horses: three cases. *J. Equine Vet. Sci.* 28: 238-243. ISSN: 0737-0806; DOI:10.1016/j.jevs.2008.02.006.

O'Connor R. M., Butler W. R., Finnerty K. D., Hogue D. E., Beermann D.H. 1991. Acute and chronic hormone and metabolite changes in lambs fed the beta-agonist, cimaterol. *Domest. Anim. Endocrinol.* 8: 537–548; [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(91\)90023-D](https://doi.org/10.1016/0739-7240(91)90023-D).

Byrem T. M., Beermann D. H., Robinson T. F. 1998. The beta-agonist cimaterol directly enhances chronic protein accretion in skeletal muscle. *J Anim Sci*; 76: 988–998. DOI: 10.2527/1998.764988x

Mersmann H. J. 1998. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. *J. Anim. Sci.* 76: 160-172; ISSN 1525-3163; DOI: [10.2527/1998.761160x](https://doi.org/10.2527/1998.761160x).

Buntyn J.O., Burdick-Sanchez N. C., Schmidt T. B., Erickson G. E., Sieren S. E., Jones S. J., Carroll J. A. 2016. The metabolic, stress axis, and hematology response of zilpaterol hydrochloride supplemented beef heifers when exposed to a dual corticotropin-releasing hormone and vasopressin challenge. *J. Ani. Sci.* 94:2798–2810. ISSN 1525-3163 DOI: 10.2527/jas2015-0192.

Shirato K., Tanihata J., Motohashi N., Tachiyashiki K., Tomoda A., Imaizumi K. 2007. β -agonist clenbuterol induced changes in the distribution of white blood cells in rats. *J. Pharmacol. Sci.* 104: 146 -152. ISSN: 1347-8613. DOI: 10.1254/jphs.FP0070267.

Vicente-Pérez A., Avendaño-Reyes L., Barajas-Cruz R., Macías-Cruz U., Correa-Calderón A., Vicente-Pérez R., Corrales-Navarro J. L., Guerra-Liera J.E. 2018. Parámetros bioquímicos y hematológicos en ovinos de pelo con y sin sombra bajo condiciones desérticas. *Ecosist. Recur. Agropec.* 5 (14): 259-269. ISSN: 2007-901X; DOI: 10.19136/era.a5n14.1544.

Boyd B. M., Shackelford S. D., Hales K. E., Brown-Brandl T. M., Bremer T. M., Spangler M. L., Wheeler T. L., King D. A., Erickson G. E. 2015. Effects of shade and feeding zilpaterol hydrochloride to finishing steers on performance, carcass quality, heat stress, mobility, and body temperature. *J. Anim. Sci.* 93:5801–5811. ISSN: 0021-8812; DOI: 10.2527/jas.2015-9613.

Ahmadi-Hamedani M., Ghazvinian K., Atyabi N., Khanalizadeh P., Masoum M. A., Ghodrati M. S. 2016. Hematological reference values of healthy adult Sangsari sheep (Iranian fat-tailed sheep) estimated by Reference Value Advisor. *J. Appl. Anim. Res.* 25: 459-464. ISSN: 1618-565X; DOI: 10.1007/s00580-015-2211-z.

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DE MALEZA DEL VALLE DEL FUERTE

Victor Gabriel Almada Ruiz ^{1*}, Álvaro Reyes Olivas¹, Gabriel Antonio Lugo García¹, Bardo Heleodoro Sánchez Soto¹. Doctorado en Ciencias Agropecuarias. ¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. *almadaruiz@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

En el transcurso de la evolución del reino vegetal, las plantas han desarrollado estrategias adaptativas que han permitido su permanencia y distribución en la tierra, incrementando su capacidad para competir con otros organismos, incluso del mismo grupo (Celis *et al.*, 2008). Dentro de las estrategias más evolucionadas se encuentra la producción de sustancias químicas fitotóxicas que juegan un papel importante en la interacción con otras plantas porque apoyan la supervivencia de la especie portadora (Blanco, 2006). La capacidad de las plantas para interferir en el establecimiento y desarrollo de otras especies vegetales en su rango de acción directo se conoce como alelopatía (Nath, Yumnam y Deb, 2016). La presencia de esta característica en diversos grupos vegetales se ha aprovechado desde hace décadas, logrando migrar su aprovechamiento de lo meramente artesanal al desarrollado de sustancias orgánicas base de nuevos plaguicidas de impacto ambiental menor. En agricultura, el uso de sustancia alelopáticas ha mostrado gran potencial desde hace muchos años (Lockerman y Putman, 1978). Diversos productos entre los que se encuentran polvos, extractos y aceites esenciales han sido evaluados en el manejo de insectos, hongos, bacterias, nematodos e inclusive otras plantas (Ahmed, Rafiqul y Kamal, 2008; Bensch *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2010; Hernández, 2016). En el área de control de arvenses se han obtenido resultados sumamente prometedores, principalmente en la interferencia de la germinación (Valdés, 2008; Ramírez, 2014; Flores, Sánchez y Pérez, 2015; Hernández, 2016). Otros efectos son la alteración de procesos hormonales y enzimáticos, fotosintéticos, respiratorios y la función de la membrana citoplasmática (Sampietro, 2001). Con un universo botánico de más de 200 mil especies vasculares descritas (Magaña y Villaseñor, 2002; Llorente y Ocegueda, 2008), la dilucidación del potencial alelopático de muchas especies vegetales aún se desconoce. Ante la necesidad de contribuir con información de nuevas especies con propiedades alelopáticas y su uso en el control de plagas y en particular en el manejo de arvenses, el presente estudio tiene la finalidad de utilizar extractos acuosos, metanólicos y hexánicos de 11 especies con potencial alelopático en el manejo de cinco especies de maleza con amplia distribución en el Valle del Fuerte, Norte de Sinaloa, México.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las especies identificadas como “maleza” tienen gran influencia en la producción agrícola al competir directamente con el cultivo por nutrientes, agua, luz y espacio, e interferir en los procesos relacionados con la cosecha (Fernández, 1982). Las arvenses pueden inducir pérdidas entre el 10 y 30 % de la producción agrícola (Espinoza y Sarukhán, 1997; Vibrans, 2011). Dentro de las estrategias de control de malezas destaca el uso de productos químicos; sin embargo, pese a su eficiencia, la crítica como agente causal de problemas asociados a la contaminación ambiental ha incentivado la recomendación de un cambio en la dinámica de su empleo y el establecimiento de un sistema productivo sustentable. En este sentido, el uso de

productos alelopáticos ha mostrado buenos resultados a través de la historia. En el control de maleza destaca el uso de extractos acuosos, extractos etanólicos, polvos y aceites esenciales en la modificación de los patrones de germinación y desarrollo de los géneros de maleza más importantes del mundo (Viné, Guerrero y Bensch, 2013; Ramírez, 2014; Rodríguez, Chico y Chávez, 2014). Sin embargo, la mayoría de los ensayos se ha limitado a evaluar la influencia de la maleza en el crecimiento y desarrollo del cultivo (Rodríguez, Chico y Chávez, 2014; Flores, Sánchez y Pérez, 2015; Hernández, 2016). Si bien es cierto que los resultados proporcionan importante información acerca de este fenómeno y su influencia en la agricultura, aún falta por explorarla a mayor profundidad y enfocarla directamente al control de estas y no solo en cómo interfiere con el cultivo. El uso de extractos es una estrategia prometedora y su perfeccionamiento puede tener un impacto considerable en la readaptación del actual sistema de manejo de plagas vegetales.

HIPÓTESIS

Los extractos vegetales utilizados inhibirán la germinación y desarrollo de las malezas evaluadas sin afectar el cultivo agrícola al cual estén asociadas. Aquí queda claro que la hipótesis está bailando en la cuerda floja porque no se dan los nombres de las especies de interés ni sus antecedentes.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar bajo condiciones de laboratorio e invernadero, el efecto de extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de 10 especies vegetales (*Ambrosia artemisiifolia* L.; *Azadirachta indica* A. Juss; *Bursera laxiflora* S. Watson; *Croton fragilis* Kunth.; *Eucalyptus globulus* Labill.; *Hintonia latiflora* (Sessé & Moc. Ex. DC.) Bullock; *Lantana camara* L.; *Ocimum basilicum* L.; *Ricinus communis* L.; *Schinus terebinthifolius* Raddi; *Swietenia humilis* Zucc.) en la germinación y crecimiento de las arvenses *Amaranthus hybridus* L.; *Convolvulus arvensis* L.; *Helianthus annuus* L.; *Portulaca oleracea* L. y *Sorghum halepense* (L.) Pers.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Explorar el comportamiento germinativo de semillas de *Amaranthus hybridus* L.; *Convolvulus arvensis* L.; *Helianthus annuus* L.; *Portulaca oleracea* L. y *Sorghum halepense* (L.) Pers., en respuesta al contacto con los extractos.
2. Determinar el efecto de los extractos en el crecimiento y peso seco de raíz e hipocótilo de las arvenses evaluadas y los cultivos a los cuales se encuentran asociadas.
3. Definir la dosis que presente mayor efectividad en la inhibición de la germinación y desarrollo de las cinco especies tratadas.
4. Identificar el producto y la estructura vegetal que presente mejores resultados con relación a la inhibición de la germinación y desarrollo de las plantas blanco.
5. Determinar la influencia de los extractos evaluados en la germinación y desarrollo de cultivos agrícolas comerciales *Zea mays* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Solanum lycopersicum* L. y *Capsicum annum* L.
6. Determinar la composición química cualitativa de los extractos utilizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Especies fuente. Los extractos se obtendrán de material vegetativo y reproductivo de las especies a evaluar. En el caso de árboles y arbustos, las secciones elegidas corresponden a la corteza del tallo, hojas y frutos. Para especies herbáceas solo se utilizarán hojas y frutos. Aunado a ello, se colectarán muestras por triplicado con la finalidad de corroborar la identidad taxonómica de las especies.

Especies blanco. La semilla de las especies arvenses serán colectadas directamente de los terrenos agrícolas de los municipios de El Fuerte, Ahome y Guasave. Se elegirán plantas maduras y se colectarán sus frutos. Estos serán guardados en bolsas de papel y trasladados al herbario de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (FAVF) para la extracción de la simiente. El material reproductivo se resguardará en bolsas de papel en condiciones naturales para su uso en los experimentos. Las colectas se realizarán con cinco días de anticipación a cada experimento.

Cultivos agrícolas. Las semillas de las especies cultivables se obtendrán de casas comerciales con un mes de antelación al establecimiento de cada experimento y en función de las variedades más comercializadas en la región. Las muestras se resguardarán en bolsas de papel en condiciones naturales de temperatura.

Preparación de los extractos pre emergentes

La obtención de los extractos se realizará mediante maceración en frío. La cantidad de soluto a utilizar se establecerá en función de la dosis seleccionada (relación peso/volumen). Para la preparación de la mezcla se triturará la muestra vegetal con ayuda de mortero. Posterior a ello se pesarán 120, 90, 60 y 30 g de la estructura a evaluar, cantidad necesaria para formular concentraciones del 100, 75, 50 y 25 % de manera respectiva. El polvo obtenido se depositará en un frasco de polietileno color ámbar con capacidad para 250 mL y se adicionarán 120 mL de agua destilada o hexano y 1 mL de Tween 20 al 0.1 % como agente emulsificante. El frasco con la mezcla obtenida se cerrará herméticamente y se agitará suavemente durante un minuto. La solución obtenida (acuosa) se resguardará durante 24 h a temperatura ambiente, en un lugar seco y bajo condiciones de oscuridad. En el caso de los extractos metanólico y hexánico el proceso de extracción se prolongará por 72 h, sometiendo a una suave agitación manual cada 24 h. Posterior a ello y con ayuda de tela tricot, se separará la fase sólida de la líquida, depositando la solución líquida en un frasco ámbar con capacidad para 250 mL, quedando disponible para su uso en los ensayos correspondientes. El tratamiento control estará conformado solo por agua destilada en los ensayos con extractos acuosos o con hexano en el caso de los extractos hexánicos.

Obtención de los extractos post-emergentes

El procedimiento de extracción empleado será el mismo que para los ensayos emergentes, presentándose únicamente como variación la cantidad de soluto y solvente empleados. En este caso el soluto utilizado estará constituido por las cantidades de 250, 187.5, 125 y 62.5 g para

las concentraciones del 100, 75, 50 y 25 % de manera respectiva. El solvente permanecerá como 250 mL. Al igual que en los ensayos anteriores, el tratamiento testigo consistirá solamente del solvente utilizado y Tween 20.

Germinación de arvenses

Para los ensayos de germinación, cada unidad experimental estará formada por una caja Petri de plástico de 90x10 mm. El sustrato utilizado constará de un disco de papel Whatman No. 2 de 9 cm y 50 g/m² de espesor. En cada caja se colocarán 25 semillas y se aplicará una dosis única de 5 mL por tratamiento. Las cajas se cerrarán y sellarán con Parafilm. Para cada tratamiento se realizarán cuatro repeticiones. Las cajas Petri se colocarán de manera aleatoria dentro de una cámara incubadora Cooling Incubator Modelo IRH-150F con temperatura de 27±1 °C durante 10 h luz y 25±1 °C en 14 h oscuridad. Para evaluar el efecto de los tratamientos, se registrará de manera diaria la germinación de las semillas por unidad experimental. Los datos se recopilarán a partir de las 24 h de iniciado el experimento y se considerará como semilla germinada aquella cuya radícula alcance los 2 mm de longitud. El tiempo y los requerimientos térmicos de los experimentos se establecerán con base a los descrito en las Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas (ISTA, 2016).

Crecimiento radical, foliar y caulinar

Con la finalidad de conocer la influencia de los extractos utilizados en el crecimiento de las arvenses evaluadas, se registrará el crecimiento de las plántulas cuya emergencia sea positiva. La simiente germinada tras los tratamientos pre-germinativos será trasplantada a bolsas de plástico negro para monitorear su crecimiento. El sustrato utilizado estará compuesto de tierra muerta. Las bolsas con la plántula se colocarán en condiciones de invernadero. Los riegos estarán conformados solo por agua cada tres días. El período de observación y registro será de 30 días. Una vez concluido este periodo, la planta será extraída de la bolsa y sometida a la medición de las siguientes variables: 1) Longitud de la raíz, 2) longitud del tallo, 3) número de hojas, 4) tamaño de hojas y, 4) peso seco de raíz, tallo y hojas.

Germinación y crecimiento de cultivos agrícolas

La evaluación del efecto de los extractos sobre el cultivo agrícola seguirá la metodología descrita en los ensayos de germinación y evaluación del crecimiento de plantas arvenses. Solo se presentarán modificaciones en los tiempos de registro.

Identificación de los compuestos fitoquímicos

La identificación cualitativa de los grupos fitoquímicos se realizará mediante técnicas químicas de reacción colorimétrica y el uso de Cromatografía en Capa fina (TLC por sus siglas en inglés). En el caso del método colorimétrico la metodología dependerá del grupo buscado, atendiendo a la presencia/ausencia de fenoles, esteroides y triterpenos, coumarinas, sesquiterpenlactonas,

flavonoides, alcaloides, lactonas, entre otros. Para los análisis con TLC se utilizará como matriz Gel de Sílice.

Diseño experimental y análisis estadístico

Los porcentajes finales de germinación (PG), tiempos de inicio de germinación (TI) y tiempos medios de germinación (t50) se someterán a análisis estadístico mediante el ANOVA no paramétrico de Kruskal–Wallis. Para considerar significativos los efectos de los tratamientos en la germinación se utilizará el estadístico Chi-cuadrada de Pearson, con un nivel de significancia de 5%. La separación de medias se realizará con la prueba de la Suma de Rangos de Wilcoxon para todos los pares posibles de tratamientos. El mismo procedimiento será aplicado al analizar los resultados referentes a los ensayos en post emergencia. Los resultados referentes a porcentajes finales de germinación se someterán a un análisis probit para obtener la línea de respuesta log dosis-probit y los valores de la concentración que inhibió el 50% de germinación de las arvenses tratadas. Los resultados obtenidos se expresarán en concentraciones mg mL⁻¹. En dado de obtenerse un efecto herbicida, los resultados obtenidos en los ensayos post emergentes serán sometidos al mismo procedimiento probit. El manejo de todos los análisis se realizará mediante la utilización del programa estadístico SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2016).

LITERATURA CITADA

- Ahmed, R., Rafiqul H. A. T. M., Kamal, H. M. 2008. Allelopathic effects of leaf litters of *Eucalyptus camaldulensis* on some forest and agricultural crops. *Journal of Forestry Research* 19(1): 19-24. DOI: 10.1007/s11676-008-0003-x
- Bensch, T. E., Schalchli, S. H., Jobet, F. C., Seemann, F. P., Fuentes, P. R. 2009. Potencial alelopático diferencial de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) Chileno sobre algunas malezas asociadas al cultivo en el sur de Chile. *IDESIA (Chile)* 27(3): 77-88. ISSN 0718-3429. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292009000300010>.
- Blanco, Y. 2006. La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales* 27(3): 5-16. ISSN 0258-5936. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215825001>
- Celis, A., Mendoza, C., Pachón, M., Cardona, J., Delgado, W., Cuca, L. E. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. *Agronomía Colombiana* 26(1): 97-106. ISSN electrónico 2357-3732. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/13923>
- Espinoza, G. F. J., Sarukhán, J. 1997. Manual de malezas del Valle de México: claves, descripciones e ilustraciones. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 407p.
- Fernández, O. A. 1982. Manejo Integrado de Malezas. *Planta Daninha* 5 (2): 69–79. Doi: 10.1590/S0100-83581982000200010
- Flores, C. M. A., Sánchez, C. E., Pérez, L. R. 2015. Potencial alelopático de extractos foliares de *Astragalus mollissimus* Torr. sobre la germinación *in vitro* de semillas de maleza. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6(5): 1093-1103. ISSN 2007-0934. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n5/v6n5a15.pdf>

Hernández, A. M. 2016. Potencial alelopático de *Phyla strigulosa* (M. Mart. & Gal.) Mold., *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski e *Ipomoea batatas* (L.) Lam sobre arvenses y cultivos. Tesis de doctorado. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Pp. 130.
<http://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6881/Tesis%20Dr.%20Maykel%20Hern%C3%A1ndez%20Aro.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ISTA. 2016. The International Seed Testing Association. 192p. Online ISSN 2310-3655.

Llorente, B. J., Ocegueda, S. 2008. Estado del conocimiento de la biota, en Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 283-322.

Lockerman, R. H., Putman, A. R. 1979. Evaluation of allelopathic cucumbers (*Cucumis sativus*) as an aid to weed control. *Weed Science* 27(1), 54-57. Doi.org/10.1017/S0043174500043484

Magaña, P., Villaseñor, J. L. 2002. La flora de México, ¿Se podrá conocer completamente? *Ciencias* 66:24-26. ISSN:0187-6376. <http://www.revistaciencias.unam.mx/en/87-revistas/revista-ciencias-66/757-la-flora-de-mexico-se-podra-conocer-completamente.html>

Nath S., Yumnam P., Deb, B. 2016. Allelopathic Effect of Lemon Plant Parts on the Seedling Germination and Growth of Lettuce and Cabbage. *International Journal of Plant Biology & Research* 4(1): 1054. ISSN: 2333-6668.
https://www.researchgate.net/publication/314283590_Allelopathic_Effect_of_Lemon_Plant_Parts_on_the_Seedling_Germination_and_Growth_of_Lettuce_and_Cabbage

Ramírez, O. C. F. 2014. Efecto alelopático del extracto acuoso de plántulas de *Avena sativa* “avena” en la germinación y crecimiento de *Chenopodium murale* “hierba del gallinazo” y *Amaranthus spinosus* “yuyo”. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ciencias Biológicas. Pp. 87. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10646>

Rodríguez, E. M., Chico, R. J., Chávez, W. O. 2014. Efecto alelopático del extracto acuoso de hojas de *Helianthus annuus* sobre la germinación y crecimiento de plántulas de *Setaria unguolata* y *Chenopodium murale*. *REBIOL* 34(1): 5-12.
<http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbbiol/article/view/582/544>

Sampietro, D. A.: Alelopátia: conceptos, características, metodología de estudio e importancia, Instituto de Estudios vegetales, Argentina.
<https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Sampietro-.doc> (consulta, febrero 2019).

SAS Institute. 2016. SAS/STAT 14.2 User’s Guide. Cary, NC, USA. 3080 p.

Souza, F. M., Gandolfi, S., Pérez, S. C. J. G., Rodrigues, R. R. 2010. Allelopathic potential of bark and leaves of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae). *Acta Botanica Brasilica* 24: 169-174. ISSN 0102-3306. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062010000100016>.

Valdés, T. M. 2008. Efecto alelopático de residuos de *Ipomoea batatas* (L). Lam. Sobre la germinación y crecimiento de cultivos hortícolas y malezas en campo. Tesis de Licenciatura. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Pp. 50.
<http://dspace.uclv.edu.cu/handle/123456789/2724>

Vibrans, H. 2011. Malezas de México: Evolución y diversidad, nativas y exóticas, beneficios y costos. En: Simposio “Organismos genéticamente modificados con tolerancia a herbicidas”, Instituto Nacional de Ecología.
https://www.academia.edu/28610246/Malezas_de_M%C3%A9xico_Evoluci%C3%B3n_y_diversidad_Nativas_y_ex%C3%B3ticas_Beneficios_y_costos

Viné, L. C., Guerrero, C. J., Bensch, T. E. 2013. Efecto alelopático de extractos acuosos foliares de diez ecotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) sobre *Rumex acetosella* L. *IDESIA* 31(3): 77-87. ISSN 0718-3429. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292013000300011>.

ANÁLISIS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE TIBURONES Y RAYAS DE IMPORTANCIA COMERCIAL EN EL GOLFO DE CALIFORNIA

Tania Guadalupe Romero Leyva¹, Emigdio Marín Enríquez¹, David Corro Espinosa². Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias del Mar.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar, aynath_14@hotmail.com.

²Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera en Mazatlán.

INTRODUCCIÓN

En México se han documentado poco más de 100 especies de tiburones (Espinosa-Pérez *et al.*, 2004) y 90 de rayas (Castro-Aguirre y Espinosa-Pérez, 1996). El grupo de elasmobranquios constituye un papel importante como recurso pesquero, debido al interés comercial que tienen algunas especies de tiburones y rayas, ya que de ellos se pueden obtener carne, aletas, aceite, pieles, mandíbulas y cartílago (Villavicencio-Garayzar, 2000). Por su volumen y valor en la producción pesquera el recurso tiburón se posiciona a nivel nacional en el décimo lugar; mientras que rayas y similares por su volumen se posiciona en el lugar 23 y por su valor en el 30 (SAGARPA, 2017). En 2017 la producción total de tiburones y rayas fue de 55,840 toneladas métricas equivalente al 2.59% de la producción nacional en peso vivo. Las principales entidades productoras son Sinaloa (17%), Nayarit (14%), Baja California Sur (12%) y Oaxaca (11%). (SAGARPA, 2017). La composición específica en las capturas comerciales dirigidas y no dirigidas de estos recursos es diferente debido a las características oceanográficas que imperan en cada zona de pesca, ejemplo de ello es que en la costa occidental de la Península de Baja California las capturas están sostenidas por especies de tiburones y rayas de hábitos subtropicales y templados, mientras que en el Golfo de California y el resto del Pacífico mexicano las especies más representativas en la pesca comercial, son de hábitos tropicales (Medina-Bautista, 2014). Los elasmobranquios son muy sensibles a las tasas de explotación elevadas, debido a sus características biológicas, ya que presentan crecimiento individual lento, tasas de fecundidad bajas y periodos prolongados de gestación (Holden, 1974; Frisk *et al.*, 2001), lo cual tiene como consecuencia una escasa o nula recuperación a corto plazo (Camhi *et al.*, 1998; Cailliet *et al.*, 2005). Por esta razón se han implementado estrategias de manejo como el establecimiento de la Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, Pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. Ésta Norma tiene el propósito inducir al aprovechamiento sostenible de los tiburones y rayas, así como contribuir a la conservación y protección de elasmobranquios y otras especies que son capturadas incidentalmente (DOF 14/02/2007), además del periodo de veda establecido para tiburones y rayas en el Océano Pacífico y tiburones en el Golfo de México, del 1 de mayo al 31 de julio, periodo que se mantiene vigente a la fecha (DOF 11/06/2012). Como fundamento para la implementación de estas estrategias de manejo es preciso llevar a cabo estudios sobre las características biológicas básicas de los organismos (reproducción, crecimiento, alimentación), así como la distribución y la identificación de zonas de reproducción y crianza. Tomando en cuenta parámetros ambientales que pudieran influir en el comportamiento de las especies como

lo es la degradación de los ambientes costeros, estuarinos y de agua dulce, que en su mayoría son sitios de crianza, propiciando decrementos en la abundancia poblacional (Camhi *et al.* 1998; Stone *et al.* 1998). Por esta razón se pretende enriquecer el conocimiento sobre el desarrollo embrionario y reproductivo de las especies de tiburones y rayas de mayor interés comercial, determinando el periodo en el que la mayoría de las hembras expulsan las crías y las zonas de nacimiento, con el fin de identificar variaciones espacio-temporales de los periodos reproductivos, para evaluar si éstos periodos coinciden con los periodos de veda establecidos en la Ley.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Además de la importancia biológica y ecológica que tiene el grupo de elasmobranquios, al ser considerados en el caso de los tiburones como depredadores tope, también juegan un papel relevante en la actividad pesquera, debido a que tanto de los tiburones como de las rayas se obtienen diversos productos como la carne, aletas, aceite, pieles, mandíbulas y cartílago (Villavicencio-Garáyzar, 2000). Este grupo presenta cierta vulnerabilidad a la sobrepesca por sus características intrínsecas de historia de vida, ya que presentan un crecimiento lento, gran longevidad, madurez sexual tardía, baja fecundidad y una baja resiliencia (Frisk *et al.*, 2001), lo que se refleja en un bajo potencial reproductivo y una baja capacidad de incremento poblacional (Cailliet *et al.*, 2005), aunado a la degradación de importantes sitios de crianza en hábitats costeros, estuarinos y de agua dulce, lo cual propicia un decremento poblacional (Camhi *et al.* 1998; Stone *et al.* 1998). Como recurso pesquero existen herramientas de manejo como lo es la NOM-029-PESC-2006 (Pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento.) y el establecimiento de un periodo de veda que comprende del 1 de mayo al 31 de julio (D.O.F. 11/06/2012). Sin embargo es necesario enriquecer el conocimiento sobre el desarrollo embrionario y reproductivo de tiburones y rayas principalmente las especies de importancia comercial, determinando el periodo en el que las hembras de la mayoría de las especies de importancia comercial expulsan las crías, y cuáles son las zonas de avivamiento, con el fin de identificar las potenciales variaciones espacio temporales, y evaluar si los periodos reproductivos coinciden con los periodos de veda establecidos en la ley.

HIPÓTESIS

La veda temporal aplicada a las especies de tiburón y rayas en el Pacífico mexicano coincide con los periodos de mayor actividad reproductiva de las especies de interés comercial, sujetas a estudio.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el periodo reproductivo de las especies de tiburones y rayas, con interés comercial en el Golfo de California y el grado de protección que la actual veda proporciona a estas poblaciones.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estimar la proporción de sexos de los embriones de tiburones y rayas de importancia comercial.
- Estimar la relación longitud-peso de los embriones de tiburones y rayas.

- Estimar la curva de crecimiento de los embriones de tiburones y rayas.
- Definir las zonas de avivamiento (nacimiento), con el análisis de las muestras biológicas disponibles y los datos obtenidos a través de las bitácoras de pesca.
- Comparar el año tipo de la actividad reproductiva con los meses de veda (NOM-029-PESC-2006; NOM-009-PESC-1993).
- Caracterizar las condiciones ambientales de las áreas de avivamiento y crianza.
- Complementar mediante la búsqueda bibliográfica los posibles huecos en las bases de datos de las seis especies sujetas a estudio.

MATERIAL Y METODOS

El Golfo de California (GDC), constituye una estrecha faja de agua localizada al noroeste de México, entre la península de Baja California y los estados de Sonora y Sinaloa, desde la desembocadura del río Colorado hasta una latitud norte aproximada de 22°52' (Boca del Golfo), con una dirección noroeste-sureste. Su longitud es de 1,090 km; la amplitud, medida de costa a costa, varía de 100 a 200 km (Hernández, 1989). Se considera una fosa profunda, resultado de la separación horizontal respecto al continente, cuya anchura crece con velocidades promedio de 4-6 cm/año; se calcula que su formación inició hace solo 4-5 millones de años. Dentro del Golfo se presentan varias cuencas; en su cabecera es somero por la acumulación de sedimentos provenientes del río Colorado, mientras que en el extremo Sur sobrepasa los 3,600 m de profundidad (Lugo, 1985).

Se cuenta con un acervo de muestras biológicas de rayas y tiburones, así como de una base de datos, proveniente de las capturas de la pesca ribereña del Golfo de California y de la Fauna de Acompañamiento de Camarón (FAC) desde 2003 a la fecha actual. Se seguirán recolectando muestras de embriones y datos de hembras preñadas o en periodo de reproducción, durante los primeros dos años de desarrollo de este proyecto de investigación, mediante los muestreos en campo por parte del equipo de trabajo del Programa Regional Pelágicos Mayores del Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera de Mazatlán (CRIAP-Mazatlán).

Para preservar las muestras se fijarán en alcohol al 70%. Se realizará una clasificación de especies, actualmente se proponen tres especies de tiburón (*Prionace glauca*, *Sphyrna zygaena* y *S. lewini*) y tres de rayas (*Rhinoptera steindachneri*, *Hypanus dipterurus*, *Zapteryx xyster*). Se registrará la longitud total de hembras y en el caso de los embriones se registrará longitud total y peso.

Se estimará la estructura de tallas mediante histogramas de frecuencias de tallas con los datos obtenidos de AD en el caso de las rayas, y de LT en el caso de los tiburones. Se estimarán los valores de longitud total, mínimos (Mín), máximos (Máx), la moda, la mediana y el número de datos (n), con la finalidad de observar la distribución de tallas (Aguirre-García, 2009).

La proporción de sexos de los embriones se determinará mediante un conteo total de organismos de cada sexo y se dividirá el número de hembras entre el número de machos. Una vez obtenidas las proporciones se analizarán bajo la hipótesis nula de que existe una proporción de 1M: 1H, utilizando la prueba estadística de χ^2 y con una confianza del 95% (Daniel, 2002).

La relación entre el peso y la longitud se estimará ajustando un modelo potencial:

$$Pt = aLt^b$$

Dónde:

Pt es el peso total,
 a es la ordenada del origen,
 b es la pendiente y
 Lt la longitud total.

La estimación del crecimiento de embriones se realizará mediante la lectura de bandas en vertebras; se ajustará un modelo de crecimiento de von Bertalanffy para estimar los parámetros del crecimiento poblacional de cada una de las especies de interés:

$$L_t = L_{\infty} (1 - e^{-k(t-t_0)})$$

Donde L_t = longitud a la edad t ;

L_{∞} = longitud asintótica;

k = coeficiente de crecimiento; y

t_0 = talla teórica a la edad cero

Se determinará la fecundidad uterina, a través del número de embriones contenidos en cada útero. Se realizará además, un test- t (muestras pareadas) para establecer posibles diferencias en el número total de embriones por útero. El desarrollo embrionario se describirá según observaciones de la morfología externa del embrión en base a coloración, presencia de filamentos branquiales, dentículos dérmicos y variación del tamaño del embrión con respecto al saco vitelino (Isla-Isla, 2013).

Las zonas de nacimiento se definirán con la información de campo registrando la presencia de recién nacidos y de embriones tardíos. Y será complementada con información bibliográfica disponible.

Para la caracterización de las condiciones ambientales de las áreas de nacimiento y crianza se explorarán distintos repositorios de bases de datos ambientales inferidas mediante sensores remotos y obtenidas de cruceros oceanográficos y/o modelación numérica (ERDDAP, COPERNICUS), con el fin de extraer información de variables ambientales básicas (temperatura superficial, clorofila- a) para las áreas de reproducción y crianza, una vez que éstas sean definidas.

Se evaluarán las diferencias ente zonas mediante pruebas de ANOVA (paramétrica o no paramétrica, según sea el caso), y se construirán series de tiempo de las condiciones promedio, con el fin de evaluar la similitud de las condiciones ambientales entre las distintas áreas de crianza y reproducción de las distintas especies de tiburones y rayas de importancia comercial.

LITERATURA CITADA

Aguirre-García, B. 2009. Edad y crecimiento de la raya gabilán *Myliobatis californica* en la parte Norte del Golfo de California. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 84 p.

Cailliet G.M., Musick J. A., Simpfendorfer C. A. y Stevens J. D. 2005. Ecology and Life History Characteristics of Chondrichthyan Fish. En: Fowler S.L., Cavanagh R.D., Camhi M., Burgess

G.H., Cailliet G.M., Fordham S.V., Simpfendorfer C.A. y Musick J.A., (comp. & ed.). Sharks, Rays and Chimaeras: The Status of the Chondrichthyan Fishes. IUCN SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, pp, 12-18.

Camhi M., Fowler S., Musick J., Brautigam A., y Fordham S. V. 1998. Sharks and their relatives: Ecology and Conservation. IUCN/SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 39 pp. ISSB: 2-8317-0460-X

Castro-Aguirre J. L. y Espinosa H. P. 1996. Listados Faunísticos de México. VII. Catálogo Sistemático de las Rayas y Especies Afines de México (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Rajiformes: Batoideiomorpha). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 75 pp. ISSN: 1026-8766

DOF. 14 de febrero de 2007. Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, Pesca responsable de tiburones y rayas: Especificaciones para su aprovechamiento. 32 p.

DOF. 11 de junio de 2012. Acuerdo por el que se modifica el Aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos, publicado el 16 de marzo de de 1994 para establecer los periodos de veda de pulpo en el Sistema Arrecifal Veracruzano, jaiba, en Sonora y Sinaloa, tiburones y rayas en el Océano Pacífico y tiburones en el Golfo de México. 4 p.

Espinosa-Pérez H., Castro-Aguirre J. L. y Huidrobo-Campos L. 2004. Listados Faunísticos de México. IX. Catálogo Sistemático de Tiburones (Elasmobranchii: Selachimorpha). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 134 pp. ISSN: 1026-8766

Frisk M.G., Miller T. J. y Fogarty M. J. 2001. Estimation and analysis of biological parameters in elasmobranch fishes: A comparative life history study. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 58, 969-981. DOI: 10.1139/cjfas-58-5-969

Hernández M. E. 1989. Condiciones climáticas del Golfo de California y sus islas. Investigaciones geográficas (20) 71-87. Versión On-line ISSN 2448-7279 versión impresa ISSN 0188-4611

Holden M. J. 1974. Problems in the Rational Exploitation of elasmobranchs Populations and some suggested solutions, pp. 117-137. En: F. R. H. Jones (eds.) Sea Fisheries Research, John Willey & Sons, New York. 510 p.

Isla-Isla A. Y. 2013. Biología reproductiva y desarrollo embrionario de *Centroscyllium granulatum* Günther, 1887 (CHONDRICHTHYES, ETMOPTERIDAE) en la Region de los Ríos. Tesis de Licenciatura. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología Marina. 39 p.

Lugo H. J. 1985. Morfoestructuras del fondo oceánico mexicano. Boletín del Instituto de Geografía. 18: 31-50. México. UNAM.

Medina-Bautisa J. 2014. Estructura espacial de la captura de la pesquería de mediana altura de tiburón en el Pacífico mexicano. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 178 p.

SAGARPA. 2017. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. Dirección General de Planeación, Programación y Evaluación. Dirección de Evaluación y Programas Estratégicos, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. CONAPESCA. 300 p.

Stone B.R., Bailey C.M., McLaughlin A.S., Mace M.P., Schulze M.B. 1998. Federal management of Atlantic shark fisheries. Fish. Res. 39: 215-221. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(98\)00185-4](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(98)00185-4)

Villavicencio-Garáyzar, C. J. 2000. Áreas de crianza de tiburones en el Golfo de California. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Área Interdisciplinaria de Ciencias del Mar Hoja de cálculo SNIB-CONABIO proyecto No. L054. México. D.F. 121 p.

INDICADORES CONDUCTUALES ASOCIADOS AL BIENESTAR DE GANADO BOVINO DE RECIENTE ARRIBO AL CORRAL DE ENGORDA

Alma Carolina Calderón Alonso

Francisco Gerardo Ríos Rincon, Jesús David Urías Estrada, Alfredo Estrada Angulo, Jesús

José Portillo Loera, Beatriz Isabel Castro Pérez

Maestría en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa.

carolina.alonso0293gmail.com

RESUMEN

En la cadena de valor de bovinos productores de carne, el transporte tiene una importancia vital para el bienestar animal y la eficiencia productiva, sin embargo, existen factores que desencadenan reacciones que se traducen en estrés, desafíos fisiológicos, fatiga, riesgo de lesiones y muerte. Para valorar el impacto del transporte en los indicadores de bienestar en bovinos productores de carne de reciente arribo al corral de engorda bajo condiciones de alta temperatura ambiental, se llevará a cabo un estudio observacional prospectivo durante ocho semanas. Se evaluarán las condiciones ambientales: temperatura, humedad relativa, e índice de temperatura y humedad (ITH); se registrarán las condiciones de transporte: número de bovinos transportados, tipo de ganado, tipo racial, densidad de carga, lugar de procedencia, duración de viaje, peso neto de la carga, técnicas de manejo a la reciba y condición corporal de los bovinos. Al finalizar la descarga y cuando los bovinos se encuentren alojados en los corrales de reciba se aplicará una guía de verificación de las pautas conductuales y posteriormente en un segundo momento del día, durante 10 días, mediante el registro de la ocurrencia de acceso al comedero, bovinos en rumia, descanso, acceso al agua, vocalización, montas, acalamientos, topetazos y signo de Flehmen. Para las variables cuantitativas se realizará análisis estadístico descriptivo; con el número de bovinos por corral y hora del día que manifiesten las pautas conductuales se calcularán tasas; enseguida, se elaborarán histogramas por corral y hora de observación para apreciar la distribución de frecuencias de los valores de las tasas y revisar la aproximación a la distribución de probabilidad normal. Para detectar si existen diferencia estadística entre lotes y hora del día, se aplicará análisis de la varianza. La comparación de promedios se realizará con la prueba de Dunn. El nivel de alfa para aceptar diferencia estadística será máximo de 0.05.

ABSTRACT

In the value chain of beef cattle, transport has vital importance for animal welfare and productive efficiency, however, there are factors that trigger reactions and causes stress, physiological challenges, fatigue, injury risk and death. To assess transport impact on welfare indicators in beef cattle of recent arrive to feedlot under high temperature conditions, a prospective observational study will be carried out for eight weeks. The environmental conditions will be evaluated: temperature, relative humidity, and temperature and humidity index (THI); and also the conditions of transport: number of transported cattle, cattle kind, breed, loading density, origin, transport duration, load's net weight, handling techniques at receiving and corporal condition. Upon downloading and when bovines are resting in the receiving pens, behavioral guidelines will be applied and later in a second moment of the day, during 10 days, by registering the occurrence of access to the feeder, cattle in rumination, rest, access to water,

vocalization, mounting, grooming, head butt and Flehmen sign. For the quantitative variables, a descriptive statistical analysis will be carried out; with the number of cattle per pen and time of day that manifest the behavioral guidelines, rates will be calculated; then, histograms by pen and time of observation will be developed to appreciate the frequency distribution of the values of the rates and to revise the approximation to the normal probability distribution. To detect if there is statistical difference between lots and time of day, analysis of variance will be applied. The comparison of averages will be made with the Dunn test. Alpha level to accept statistical difference will be maximum of 0.05.

INTRODUCCIÓN

La logística y el transporte de bovinos tiene una importancia vital para el bienestar animal y la eficiencia productiva, en este sentido, la globalización del comercio y una creciente demanda de proteína de origen animal ha dado lugar a un considerable aumento en el número de animales que son transportados con diversos fines en todo el mundo, lo que ha agudizado problemas de bienestar en los diversos puntos de la cadena de suministros (Miranda de la Lama, 2012). Durante el transporte los bovinos son sometidos a factores desencadenantes de estrés que incluyen: i) incremento del manejo, recolección y arreo con elementos punzantes o con el bastón eléctrico, ii) mezcla de animales de diferente procedencia y contacto con personal extraño, iii) transporte y desafíos físicos como rampas, superficies resbaladizas, densidad de carga, movimiento, ruido y vibración del vehículo; iv) contacto con ambientes nuevos y no familiares; v) privación de alimento y agua; vi) cambios en la estructura social, vii) cambios en las condiciones climáticas como temperatura, radiación y humedad, viii) imposibilidad de descanso, entre otros aspectos (Ferguson *et al.*, 2008; De Witte *et al.*, 2009; Grandin, 2003; Minka *et al.*, 2007). Estos factores desencadenan reacciones inevitables en el bovino que se traducen en estrés psicológico, desafíos fisiológicos, fatiga, riesgo de lesiones y muerte (Fisher *et al.*, 2009). El transporte de ganado es el episodio más estresante y perjudicial en la cadena de operaciones en la producción de carne (FAO, 2001). Este ocasiona, aun en las mejores condiciones, un marcado estrés en los animales; la intensidad de esta experiencia depende principalmente de la calidad de la conducción, duración del viaje, niveles de vibración, ayuno, condiciones ambientales, diseño de los vehículos, densidad de carga y la mezcla social (Bak y Wajda, 1997, Lewis, 2008). El primer paso antes de transportar bovinos consiste en seleccionar aquellos que estén en buenas condiciones para afrontar un viaje, contemplando el estatus nutricional, fisiológico y sanitario de los mismos (Broom, 2008). La pérdida de peso vivo durante el transporte, que ocurre principalmente en las primeras 15 h, está dada básicamente por disminución de contenido intestinal y dependerá del tipo de alimentación y del tiempo de viaje (Knowles, 1998). Tiempo de transporte que va de 2 a 48 horas de duración han dado como resultado reducción de entre 0 a 8 % del peso corporal (Lofgreen *et al.*, 1975). Entre los tópicos más discutidos en términos del transporte de ganado son la densidad de carga, definida como el espacio que los bovinos tienen disponible dentro del compartimento de un tráiler y es expresado en kg/m^2 o m^2/cabeza , y la duración del viaje debido a que se asume que las largas distancias afectan el estatus fisiológico y conductual de los bovinos (Miranda de la Lama, 2012). Además, viajes más largos suponen un mayor tiempo de privación de agua, generando condiciones de mayor deshidratación y hemoconcentración, sobre todo en la estación estival (Tadich *et al.*, 2005). Los efectos del transporte sobre los indicadores de bienestar animal no

han sido estudiados a fondo. En términos de densidad de carga, se necesita conducir ensayos científicos para comparar los indicadores conductuales y fisiológicos de salud y bienestar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El transporte de ganado bovino se lleva a cabo en vehículos especializados (jaulas), fabricados íntegramente en aluminio, con ventanas en paredes y techo, puertas laterales y traseras de guillotina. De acuerdo con la normativa mexicana, estos vehículos corresponden al tipo T3-S2 (tracto camión articulado, con 5 ejes y 18 llantas), que deben circular por los caminos y puentes de jurisdicción federal con las luces encendidas permanentemente, según lo señala la NOM-012-SCT-2-2017. Los vehículos tipo T3-S2 pueden circular por caminos tipo A, ET, B y C con dimensiones máximas de 23, 20.8 y 18.5 m de largo, respectivamente, y un peso bruto vehicular máximo autorizado de 46.5, 38.0 y 33.5 toneladas; estos vehículos no están autorizados para circular en caminos tipo D. La etapa de transporte es el episodio más estresante y perjudicial en la cadena de operaciones en la producción de carne bovina; al respecto, el periodo de movilización para ganado bovino en México no debe exceder de 18 horas sin descanso y provisión de agua, en tal sentido NOM-051-ZOO-1995 establece que los periodos de descanso sin desembarcar al ganado por vía terrestre, deben ser por lo menos de 3 horas, pero en el caso de movilizaciones mayores a 24 horas, además de los descansos cada 18 horas, se debe ofrecer alimento a los bovinos. La presente investigación pretende analizar e interpretar los efectos que el transporte bajo condiciones de alta temperatura ambiental, diversas densidades de carga y duración del viaje ocasiona en los indicadores de bienestar en el ganado bovino de reciente arribo al corral.

HIPÓTESIS

La duración del viaje y la densidad de carga impactan negativamente en los indicadores de bienestar de ganado bovino productor de carne de reciente arribo al corral de engorda en condiciones de alta temperatura ambiental.

OBJETIVO GENERAL

Valorar el impacto del transporte en los indicadores de bienestar animal en bovinos productores de carne de reciente arribo al corral de engorda bajo condiciones de alta temperatura ambiental.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto de la densidad de carga durante el viaje en los indicadores de bienestar del ganado bovino productor de carne de reciente arribo al corral de engorda bajo condiciones de alta temperatura ambiental.
2. Evaluar el efecto de la duración del viaje en los indicadores de bienestar del ganado bovino productor de carne de reciente arribo al corral de engorda bajo condiciones de alta temperatura ambiental.
3. Identificar las pautas conductuales del ganado bovino de reciente arribo al corral de engorda bajo condiciones de alta temperatura ambiental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El estudio se llevará a cabo en la Unidad de Producción Pecuaria (UPP) Agropecuaria JS S.A. de C.V., (24°38'58" N y 107° 17' 10" O; 70 msnm); la clasificación del clima es BS₁(h')w(w) (e), el cual se define como un clima semiseco, muy cálido, extremoso con lluvias de verano (García, 1988).

Procedimiento

Se realizará un estudio observacional prospectivo de ocho semanas de duración a partir de 8 de julio de 2019. Se realizarán cinco visitas semanales con base al programa de compras de ganado y al momento del arribo de los bovinos procedentes del lugar de origen a la UPP; se evaluarán las condiciones ambientales: temperatura, humedad relativa e índice de temperatura y humedad (ITH), utilizando la fórmula: $ITH = 0.81 \times T + HR (T - 14.40) + 46.40$ (Hahn, 1999), donde T es la temperatura ambiente en grados Celsius y HR es la humedad relativa en porcentaje. Se registrarán las condiciones de transporte: número de bovinos transportados, tipo de ganado, tipo racial, densidad de carga, lugar de procedencia, duración de viaje, técnica de descarga, peso neto de la carga y la condición corporal de los bovinos, esto con base en la metodología descrita por Lowman (1976). Cuando los bovinos se encuentren alojados en los corrales de reciba, se aplicará una guía de verificación durante los primeros 10 días del periodo de adaptación para registrar las pautas conductuales al momento del arribo y en un segundo momento durante el transcurso del día. Se registrará la ocurrencia de acceso al comedero, bovinos en rumia, descanso, acceso al agua, vocalización, montas, acicalamientos, topetazos y signo de Flehmen (Marti *et al.*, 2015).

Análisis estadístico

Se realizará análisis estadístico descriptivo para las variables cuantitativas, reportando la media, desviación estándar, mínimo y máximo. Las variables cualitativas observadas se presentarán en cuadros de frecuencias. Con el número de bovinos por corral y hora del día que manifiesten las pautas conductuales, se calcularán las tasas; para ello, se empleará la fórmula descrita por Daniel (2002):

$$\left(\frac{a}{a+b}\right)k$$

Donde:

a = La frecuencia con la cual se ha presentado el evento

a + b = El número de bovinos en el corral durante el mismo periodo de tiempo.

k = 100, 1000 o 10000.

Para apreciar la distribución de frecuencias de las tasas se elaborarán histogramas por corral y hora de observación y revisar la aproximación a la distribución de probabilidad normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov; SAS, 2002). Para detectar si existen diferencia estadística entre lotes y hora del día, se aplicará análisis de la varianza, utilizando el modelo lineal general:

$$y_{ijk} = \mu + L_i + H_j + L_i * H_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

y_{ijk} = La k-ésima observación en la j-ésima hora en el i-ésimo lote.

μ = La media general.

L_i =El efecto del i-ésimo lote.

H_j =El efecto de la i-ésima hora de observación.

$L_i * H_j$ =La interacción del efecto de lote y la hora.

ε_{ijk} =El error aleatorio.

En caso de ser necesario la comparación de los promedios se realizará con la prueba de Dunn. El nivel de alfa para aceptar diferencia estadística será máximo de 0.05.

LITERATURA CITADA

Broom D.M. 2008. The welfare of livestock during road transport. En: Appleby M., Cussen V., Garcés L., Lambert L., Turner J. (Editores) Long Distance Transport and the Welfare of Farm Animals pp. 157-181. Wallingford: CABI. ISBN: 78-184593-403-3.

Daniel W. 2005. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta Edición. LIMUSA WILEY. ISBN: 9789681861643

De Witte K. 2009. Development of the Australian Animal Welfare Standards and Guidelines for the Land Transport of Livestock: Process and philosophical considerations. J. Vet. Behav. 4:418-156. ISSN: 1558-7878.<https://doi.org/10.1016/j.jveb.2009.04.014>

FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2001. Transporte de Ganado. En: Directrices para el manejo, transporte y sacrificio humanitario del ganado. <http://www.fao.org/3/x6909S/x6909s00.htm#Contents>

Ferguson D.M., Warner R.D. 2008. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? Meat Sci. 80:12–19. ISSN: 0309-1740doi:[10.1016/j.meatsci.2008.05.004](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.004)

Fisher A.D., Colditz I.G., Lee C., Ferguson D.M. 2009. The influence of land transport on animal welfare in extensive farming systems. J. Vet. Behav. 4:157–162. ISSN: 1558-7878.<https://doi.org/10.1016/j.jveb.2009.03.002>

Grandin T. 2007. Livestock Handling and Transport. CABI. ISBN: 978-1-78064-467-7

Jensen M., Vestergaard, K. S., Krohn C. 1998. Play behavior in dairy calves kept in pens: The effect of social contact and space allowance. *Appl. Anim. Behav. Sci.*56:97–108. ISSN: 0168-1591.[https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(97\)00106-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(97)00106-8)

Knowles T.G., Warris P. D., Brown S. N., Kestin S. C., Edwards J. E., Perry A. M. 1996. Effects of feeding, watering and resting intervals on lambs transported by road and ferry to France. *Vet. Rec.*139: 335-339. ISSN: 2042-7670. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.139.14.335>

Lewis N. J. 2008. Transport of early weaned piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110:128-135. ISSN: 0168-1591. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.027>

Lowman B.G., Scotty N.A., Somerville S.M. 1976. Condition Scoring beef cattle. The east of Scotland College of Agriculture. Bulletin N° 6. <https://www.worldcat.org/title/condition-scoring-of-cattle/oclc/8589575>

Marti S., Devant M., Amatayakul-Chantler S., Jackson J. A., Lopez E., Janzen E. D., Schwartzkopf-Genswein K. S. 2015. Effect of anti-gonadotropin-releasing factor vaccine and band castration on indicators of welfare in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 93:1581–1591. ISSN: 1525-3163. DOI: 10.2527/jas.2014-8346.

Minitab I. N. C. 2000. MINITAB statistical software. Minitab Release, 13.

Minka N.S., Ayo J.O. 2007. Effects of loading behavior and road transport stress on traumatic injuries in cattle transported by road during the hot-dry season. *Livest. Sci.* 107:91–95. ISSN: 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.10.013>

Miranda de la Lama G.C. 2013. Transporte y logística pre-sacrificio: principios y tendencias en bienestar animal y su relación con la calidad de la carne. *Vet. Méx.* 44:31–56. ISSN 0301-5092.

Norma Oficial Mexicana NOM-012-SCT-2-2017. Sobre el peso y dimensiones máximas con los que pueden circular los vehículos de autotransporte que transitan en las vías generales de comunicación de jurisdicción federal. Diario Oficial de la Federación, 26 de Diciembre de 2017. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5508944&fecha=26/12/2017

Norma Oficial Mexicana NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales. Diario Oficial de la Federación, 31 de Octubre de 1996. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203479/NOM-051-ZOO-1995_230398.pdf

SAS Institute. 2002. Statistical Analysis Software. SAS/STAT System for Windows 9.0. Cary, NC, USA. SAS Institute Inc. ISBN: 978-1-60764-599-3. http://www.sas.com/en_us/software/analytics/stat.html#

Tadich N., Gallo C., Brito M., Broom D. M. 2009. Effects of weaning and 48 h transport by road and ferry on some blood indicators of welfare in lambs. *Livest. Sci.* 121:132-136. ISSN: 1871-1413 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.06.001>

MADUREZ TECNOLÓGICA Y FENÓLICA EN VID CV. TEMPRANILLO EN TRES SITIOS DE SIEMBRA

Cipriano Fuentes Verduzco

Gabriel Antonio Lugo Garcia¹, Ramona Pérez Leal², Álvaro Reyes Olivas¹ Abelardo Núñez Barrios², Pasquale Cirigliano³, Francisco Ariel Camacho Inzunza¹

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Calle 16 y Avenida Japaraqui, 81110. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México. ²

Universidad Autónoma de Chihuahua Circuito Universitario Campus I, Chihuahua, Chi, México,

³Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'economia Agraria (CREA), ⁴ Facultad de Ciencias Químico Biológicas.

RESUMEN

La viticultura es una actividad que ha tenido gran auge en los últimos años, en el estado de chihuahua se plantaron viñedos experimentales con el propósito de vinificar; la variedad tempranillo es una de las adaptadas en estas regiones; sin embargo no se han realizado análisis de la calidad de sus bayas para vinificar. El objetivo de este trabajo es Caracterizar la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Tempranillo respecto a su localización y factores vitivinícolas, provenientes de diferentes zonas geográficas del Estado de Chihuahua. El estudio se realizó en tres viñedos de diferentes regiones, las plantas están guiadas en espaldera vertical con formación de cordón unilateral; los muestreos se realizaron desde enero hasta cosecha; se utilizó un diseño de bloques al azar. La madurez fenólica se estimó usando diferenciación de pH, los polifenoles totales usando el método de folin ciocalteu. Los polifenoles actúan en madurez, acidez y astringencia dando color, evolución y cuerpo a los vinos. En hipótesis planteada se comprobó que los sitios de siembra influyen en la calidad, madurez tecnológica y fenólica de la variedad Tempranillo. La altura sobre el nivel del mar, temperatura y precipitación en la madurez influyen en la calidad óptima para vinificación.

Palabras claves: índice de madurez, Polifenoles totales, grados brix, extractabilidad, antocianos

ABSTRACT

The viticulture is an activity that has had great boom in recent years, in the state of Chihuahua experimental vineyards were planted for the purpose of vinification; the Tempranillo variety is one of those adapted in these regions; however, no analysis of the quality of their berries for vinification has been carried out. The objective of this work is to characterize the phenolic composition of grapes and wines of the Tempranillo variety with respect to its location and vitivinicultural factors, coming from different geographical zones of the State of Chihuahua. The study was carried out in three vineyards of different regions, the plants are guided in vertical trellis with formation of unilateral cord; Samplings were conducted from veraison until harvest; a randomized block design was used. The phenolic maturity was estimated using pH differentiation, the total polyphenols using the folin ciocalteu method. Polyphenols act in

maturity, acidity and astringency giving color, evolution and body to wines. In hypothesis raised it was proved that the sowing sites influence the quality, technological and phenolic maturity of the Tempranillo variety. The height above sea level, temperature and precipitation at maturity influence the optimum quality for winemaking.

Key words: maturity index, total polyphenols, brix degrees, extractability, anthocyanins

INTRODUCCIÓN

La viticultura en los últimos 10 años ha tenido un crecimiento y evolución muy importante, donde Sonora es el principal productor de uva de mesa y el norte de Baja California la principal zona vitivinícola de México (Acosta *et al.*, 2013). Los principales países productores de vid a nivel mundial, son Italia, Francia y España; México ocupa el vigésimo sexto lugar, mientras que en América se ubica en el quinto porque el 5.2% de la producción nacional se destina a la vinificación de acuerdo a la Organización Internacional de la vid y el vino (Flores, 2005).

La Asociación Nacional de vitivinicultores (ANV, 2008), publicó que en Baja California concentra el 83% de la producción de vino, seguida de Querétaro con 8%, Coahuila 4% y Zacatecas con el 3%. En conjunto, se destinan cerca de 3 mil 500 hectáreas al cultivo de uva para producir vino, de las cuales 2 mil quinientas corresponden a los valles bajacalifornianos (Ruiz, 2014). Para el 2010, México, concentraba el 90% de la producción nacional, con 3, 735 ha de las cuales el 90 por ciento de la producción de uva se destina a la elaboración de vino (González, 2015) y para el 2013 se contaba con 3, 600 ha para la producción de uva para vino, y para el 2014 la plantación de uva fue de 34 mil hectáreas de las cuales 4 mil eran para vino de mesa de las cuales 140 ha se establecieron en Chihuahua (Sagarpa, 2015) y en 2015 se registró un incremento de las exportaciones agropecuarias de 12.5%.

La calidad y rendimiento de las uvas para vinificación depende del equilibrio entre la carga de fruta y el área foliar correctamente iluminada; estos parámetros son esenciales para obtener una composición fenólica adecuada (Cañón *et al.*, 2014). El tipo de variedad en la vid es el factor que tiene mayor incidencia en la composición del fruto, ya que la capacidad de síntesis y acumulación de los diversos componentes de la baya está determinada por su genética. La variedad tempranillo tiende a ser más fresca, más agradable en aroma y sabor, mientras que, en regiones cálidas, especialmente en las estaciones calurosas, resulta con características enológicas pobres, con apenas suficiente color. El cv. Tempranillo obtienen mejores resultados en la calidad de las uvas producidas en la zona V (Amerine y Winkler, 1974). Esta es la principal variedad de uva de vino cultivada en España con Denominación de Origen originaria de Aragón y La Rioja (Song *et al.*, 2014).

Como cualquier otra fruta el grado de madurez se puede caracterizar por la relación de los contenidos de azúcar (°Brix) y de ácido (pH); así como por la concentración de compuestos fenólicos en bayas; en vinos es influenciado por la composición química de la materia prima; el cual depende de la variedad, estado de maduración, condiciones atmosféricas, durante la maduración y tipo de suelo (Muñoz *et al.*, 2007). La relevancia enológica de los polifenoles de la uva está dada por su incidencia en las propiedades químicas y en las características sensoriales de los vinos; extraídos durante la vinificación, son los compuestos que determinan

el color, astringencia y amargor de los vinos, incidiendo también en otros aspectos relacionados por su sabor y aroma (González *et al.*, 2011).

El conocimiento de la riqueza polifenólica de la uva y de la extractibilidad de estos compuestos permite controlar mejor la vinificación, empleando diferentes tecnologías y definiendo las condiciones de la maceración (Hernández, Alfaro y Arrieta, 2010). Es así que las antocianinas y taninos se pueden cuantificar utilizando el método de extracción a pH 1 y a pH 3.6 (Glorías y Augustin, 1993), En pH 1 se extraen los antocianos totales y a pH 3.6, se compara con la extracción que se realiza en una vinificación de vino tinto, por lo tanto la diferencia entre los contenidos de antocianos de los dos extractos es un índice del estado de fragilidad de las membranas de las células de los hollejos, y por lo tanto de su estado de madurez.

OBJETIVO

Determinar la madurez tecnológica así como caracterizar la calidad y composición fenólica de uva y vino en cv. Tempranillo, respecto a su localización y factores vitivinícolas, provenientes de diferentes zonas geográficas de Chihuahua.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó entres viñedos, ubicados: en ciudad Cuauhtémoc (viñedo FACIATEC) (N 28° 24' 41.2", W 106° 52'53.5") a 2042 msnm; con una temperatura media anual de 14.4°C, en la región II de Winkler frio; en el municipio de Juan Aldama (Viñedo Los leones) (N 28° 43'47.6", W 105° 55' 37.9'') a 1362 msnm con una temperatura media anual de 18°C. Se encuentra en la región V de Winkler, muy cálido, en Anáhuac (Hacienda Bustillos) (N 28° 28' 39.1", W 106° 39'37.8'') a una altura de 2055 msnm; con una temperatura media de 14°C, se encuentra en la región I de winkler muy frio, (Amerine y Winkler, 1974). El estudio se realizó en coordinación con la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

Datos climatológicos

Con estaciones meteorológicas aledañas a los viñedos, se obtuvieron los datos climatológicos (temperatura ambiental, radiación fotosintéticamente activa y precipitación) de enero del 2016 a diciembre de 2017. El estudio se realizó en dos periodos de producción (2016 a 2017) en viñedos experimentales con la cv. Tempranillo. El material vegetativo fue plantado en el 2013 y tenía 5 años de edad al inicio del estudio. Las vides se cultivaron en cordones de un brazo y sistema de espaldera de dos líneas. La distancia entre hileras es de 3 m y entre vides 1 m; la orientación de éstas fue noroeste y la poda se mantuvo entre 17 y 20 yemas por vid. Los suelos son franco arcillosos. Los riegos son por goteo estos se intensifican a partir de marzo regando de 4 a 5 horas por hectárea.

Cuadro 1. Datos climáticos y precipitación 2016 y 2017, de los meses que dura el envero.

Año	Sitios	meses	T° Max	T° Min	Pp
2016	Aldama	Junio	35.66	19.26	2
		Julio	35.97	20.49	2.80

	Cuauhtémoc	Julio	27.34	12.67	
		Agosto	23.40	12.12	12
		Septiembre	24.30	10.77	
	H. Bustillos	Julio	28.72	14.22	46.80
		Agosto	24.07	13.42	201.20
		Septiembre	25.49	12.02	43.80
2017	Aldama	Junio	37.64	19.41	0.60
		Julio	32.66	18.20	3.80
	Cuauhtémoc	Julio	31.04	12.49	11.10
		Agosto	25.68	13.54	288.30
		Septiembre	24.48	13.28	202.70
	H. Bustillos	Julio	25.86	14.15	228.80
		Agosto	24.54	13.76	128.80
		Septiembre	25.44	10.80	43.40

Determinación de la calidad en bayas

Muestreo de bayas

El muestreo de bayas se realizó para cada tratamiento, donde se tomaron muestras de 10 plantas, implementando el criterio de homogeneidad en vigor en función del largo de entrenudos, grosor y tamaño del brote en su expresión de crecimiento. La unidad experimental en todos los casos fue de 100 bayas. El procedimiento de muestreo consistió en la selección aleatoria de 5 racimos por planta. De cada racimo se tomaron 2 bayas, siempre de la parte central del racimo, una baya de la cara anterior y otra baya de la cara posterior, alcanzando un total de 10 bayas por planta. Estas bayas se cortaron por encima de la inserción del pedicelo, para evitar la rotura del hollejo, posteriormente se colocaron en una bolsa plástica y en una hielera para transportarla al laboratorio y realizar los análisis.

Determinación de parámetros analíticos generales

De las muestras recolectadas, se trituraron en licuadora para obtener un mosto, filtrado en una malla de 0,5 mm; se le analizó °Brix, pH, acidez titulable (ácido tartárico, g·L⁻¹) siguiendo los procedimientos establecidos por Zoecklein y Keneneth, 2001). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Contenido fenólico en uvas

Se realizó mediante el método propuesto por Gloríes y Augustin (1993), en el cual se llevaron extracciones parciales de polifenoles (antocianos y taninos); utilizando el triturado y macerando en soluciones de pH 1 (3.72g de KCl, 4.10 mL de HCl, y 100 mL de alcohol etílico en un litro), y pH 3.6 (14.4 g de ácido cítrico, 9.28 g de citrato de sodio, y 100 mL de alcohol etílico en un litro) aforar ambos con agua destilada.

Se pesaron 22g del triturado para cada solución, y se agregó 20 mL de pH1 y pH 3.6 a otra, se llevaron a agitación continua en agitador magnético por 2 horas, terminado el tiempo se centrifugaron a 3,000 rpm durante 20 minutos.

Y se analizaron a 520nm y 280nm.

Cálculos

El potencial fenólico se calcula mediante las formulas:

$$\% EA = \frac{\text{AntExtraibles}}{\text{AntTotales}} \times 100$$

$$\% SM = \frac{\text{Abs280pH3.6} - (\text{AntExtraibles} \times 0.4)}{\text{Abs280pH3.6}} \times 100$$

$\% IPT = \text{pH 3.6 (280nm)} \times 100$ (factor dilución)

$$IM = \frac{SST}{AT \text{ (g/L ácido tartarico)}}$$

Dónde: %EA= % de extractabilidad de antocianos

%MS= Madurez de la semilla

% IPT= Índice de polifenoles totales

AntExtraibles= antocianos extraídos a pH3.6

AntTotales = el total de antocianos potenciales extraídos a pH1.

IM= índice de madures de Cillis & obreiddi

Determinación de polifenoles totales en uva y vino

Los compuestos fenólicos en la uva y vino son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) por espectrofotometría basada en una reacción colorimétrica de óxido - reducción. En un matraz de aforación de 25 mL, se colocaron 0.5 mL, del triturado ya filtrado y centrifugado a 3,000 rpm por 15 minutos, agregar 0.5 mL, del reactivo Folin-Ciocalteu más 10 mL de carbonato de sodio al 20% se aforo con agua destilada. Esperar dos horas en oscuridad y analizar las muestras a 760 nm, en cubetas de cuarzo de 4 cm x 1.0 cm x 1.0cm, los resultados se presentaron como equivalencia de ácido gálico en razón de 1mg de ácido gálico por 1 g de muestra en concentración de polifenoles totales en g/L de ácido gálico, a través de una curva de calibración de ácido gálico.

La precipitación y temperatura promedio de cada viñedo durante el envero

El viñedo Los Leones, en el mes de junio tuvo una temperatura promedio de 26.8°C y una precipitación de 2mL; en el mes de julio registro 27.4 °C y una precipitación pluvial de 2.8 mm; mientras que el viñedo Bustillos presento una temperatura en el mes de julio de 32°C y una precipitación pluvial de 60 mm, en el mes de agosto se registró una temperatura de 20.18°C y una precipitación pluvial de 201.12 mm, en el mes de septiembre la temperatura fue de 18.28 °C y la precipitación pluvial de 438 mm; en el viñedo de FACIATEC (Cuauhtémoc), la

temperatura para el mes de julio fue de 20.14 °C y la precipitación pluvial de 90 mm, mientras que el mes de agosto registro una temperatura promedio de 17.51°C y su precipitación fue de 277.6 mm de agua; en el mes de septiembre se tuvo una temperatura de 18.43 °C y una precipitación pluvial de 32,1 mm.

Análisis estadístico

El diseño experimental esta guiado en completamente al azar, análisis estadístico. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y la comparación múltiple de medias por el test de Tukey HSD. Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando el software SAS versión 9.4 (Statiscal Analysis System).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del sitio de siembra sobre los parámetros químico

El envero es la maduración de la uva y este se inició el 21 de junio de 2016, en el viñedo (Los Leones) ubicado en el municipio de Aldama y termino el día 19 de julio del mismo año, mientras que en los dos viñedos restantes (Bustillos y Cuauhtémoc) el envero comenzó el 21 de julio de 2016, y se cosecho el día 8 de septiembre. En el cuadro 2 se presentan los resultados de peso de baya y sus componentes para la variedad Tempranillo, en los dos años muestreados, sin diferencias estadísticas en los dos años, excepto para el peso promedio mostrando diferencias estadísticas en el año 2016, mostrando dos grupos donde el viñedo de Aldama mostro diferencia significativa a los otros dos sitios los cuales forman un solo grupo.

Cuadro 2. Valores medios de peso de bayas, semillas, pulpa y hollejo (g) (100 bayas) en los años de vendimia 2016 y 2017.

Vendimia				
2016	Baya	Pulpa	Hollejo	Semilla
Aldama	164.02 a	98.07 a	54.05 a	11.46 a
Cuauhtémoc	156.30 a	93.41 a	51.49 b	10.90 a
H. Bustillos	148.8 a	91.87 a	46.49 b	10.31 a
Vendimia				
2017				
Aldama	141.30 a	84.62 a	46.66 a	9.82 a
Cuauhtémoc	133.43 a	79.93 a	44.00 a	9.34 a
H. Bustillos	136.74 a	84.40 a	42.72 a	9.56 a

*Los valores con la misma letra no presentaron diferencias estadísticas por la prueba de Tukey al 5%.

Penso y colaboradores (2014) recomiendan un pH 3.30 para garantizar la estabilidad físico-química; para la variable pH no se encontraron diferencias estadísticas en los viñedos, cuadro 3, y estos salen del rango recomendado, sin embargo, Intrigliolo *et al.* (2012) reportan un pH para la variedad Tempranillo que va desde 3.60 – 3.74, mostrando menos acidez que los viñedos en el año 2017; por otra parte Garrido *et al.* (2016) reporta un pH de 3.8 estando en la misma acidez que viñedo de H. Bustillos.

En el cuadro 3 se presentan los sólidos solubles totales (°Brix), los cuales muestran diferencias estadísticas en el año 2016 pero difieren en el 2017. El viñedo de Aldama presento 22.80 de grados Brix estando dentro de lo publicado por Hernández, Alfaro y Arrieta, (2003), publican °Brix al momento de la vendimia en bayas tintas, los cuales van desde los 20.5 – 23.5 °Brix, y Penso *et al.* (2014) reportaron para la variedad Tempranillo 21 °Brix. Garrido *et al.* (2016) reporto 22.5 °Brix al momento de la cosecha en Tempranillo. Por otra parte se observa que el viñedo en H. Bustillos reporto una media de grados brix de 19.53, estando por debajo de lo grados reportados. La acidez total titulable presento diferencias estadísticas en todos los viñedos pero sin salirse del rango de 5.5 a 8.5 g EAT/L para uva de vino de mesa publicado (Almanza *et al.*, 2012), únicamente el viñedo ubicado en Aldama presento una media de 2.18, acidez muy baja, no indicada para vino de mesa, esto podría deberse a riegos muy pesados al momento de la cosecha y por precipitaciones, sin embargo, Song *et al.* (2014) reporto una acidez de 2.9 g/L.

Cuadro 3. Valores medios de los análisis de rutina por viñedo.

Sitios 2016	SST	pH	Acidez Total
		4.02	
Aldama	22.80 a	a	5.3 b
		3.84	
Cuauhtémoc	20.24 b	a	6.27 a
		3.80	
H. Bustillos	19.53 c	a	5.5 b
2017			
Aldama	21.40 a	3.5 a	2.18 c
		3.46	
Cuauhtémoc	21.65 a	a	6.63 a
H. Bustillos	21.66 a	3.5 a	6.37 b

*Los valores con la misma letra no presentaron diferencias estadísticas por la prueba de Tukey al 5%.

En el cuadro 4, se presentan las medias de extractabilidad de antocianos presentando diferencias estadísticas en los dos años de muestreo, estando por encima de los resultados mostrados por Song *et al.* (2014) en un promedio de 33.8, estando por debajo de las medias mostradas en el cuadro 4, Salazar *et al.* (2010), reportan un porcentaje de extractabilidad entre 40 y 60 %. El %IPT mostro diferencias estadísticas solo en el año 2016 teniendo una media de

%IPT de 34.55 en H. Bustillos y 33.88 en el viñedo los leones ubicado en el municipio de Aldama, estos resultados concuerdan con lo reportado por Intrigolo y Castel (2010); mientras que el viñedo ubicado en Cuauhtémoc mostro una media de 17.22 %. El porcentaje de madurez de la semilla, muestra diferencias estadísticas en los dos años, este índice no debe de pasar de 60 (Riberau y Glorés, 2006), en ese contexto todos los viñedos están dentro de la recomendación. En cuanto al índice de Madurez dado por la relación de SST/AT, hubo diferencias estadísticas en los dos años, este índice de Cillis y Odifredi uno de los más utilizados (Herrera y Miño, 2011). El contenido de polifenoles totales presentados en mg de ácido Gálico por litro se observan diferencias estadísticas en los dos años, fue la H. Bustillos la que presento un alto contenido de polifenoles totales, Muñoz *et al.* (2007) reportaron 1821.55 mg AGE/L, pero fue en una combinación de variedades (Tempranillo-Malbec-Cabernet Sauvignon), en cambio en viñedo de H. Bustillos el 2016 se reportó 1871.00 mg AGE/L solo en Tempranillo; por otra parte se reportó un máximo de 1558.4 de polifenoles totales (Garrido *et al.*, 2016).

Cuadro 4. Valores medios del Extractabilidad de Antocianos, índice de polifenoles totales, Madurez de la semilla, índice de madurez y polifenoles totales.

Año 2016	% EA	% IPT	% MS	IM	PT
			33.50	4.23	
Aldama	83.76 a	33.88 a	a	a	1651.55 c
			50.52	3.12	
Cuauhtémoc	76.30 b	17.26 b	b	c	1774.88 b
			25.80		
H. Bustillos	64.50 c	34.55 a	c	3.6 b	1871.00 a
Año 2017					
			34.28	9.78	
Aldama	88 a	60.62 a	a	a	1590.55 c
			30.63	3.40	
Cuauhtémoc	88.7 a	82.15 a	b	b	1638.00 b
			28.70	3.26	
H. Bustillos	75.40 b	72.93 a	b	b	1800.5 a

La variable EA, IPT y MS se representan en porcentaje, el índice de madurez mediante la relación de SST/AT de cillis y Odifredi, PT en g/L^{-1} de ácido gálico. Valores seguidos seguidos de la misma letra no presentaron diferencias estadísticas por la prueba de Tukey al 5%.

En las figuras 1 y 2, se observan las tendencias del 2016 y 2017 de Índice de polifenoles totales, Extractabilidad de la semilla y la madurez de esta, observándose que en los dos años el viñedo ubicado en el municipio de Aldama el envero (maduración de la baya), comienza un mes antes.

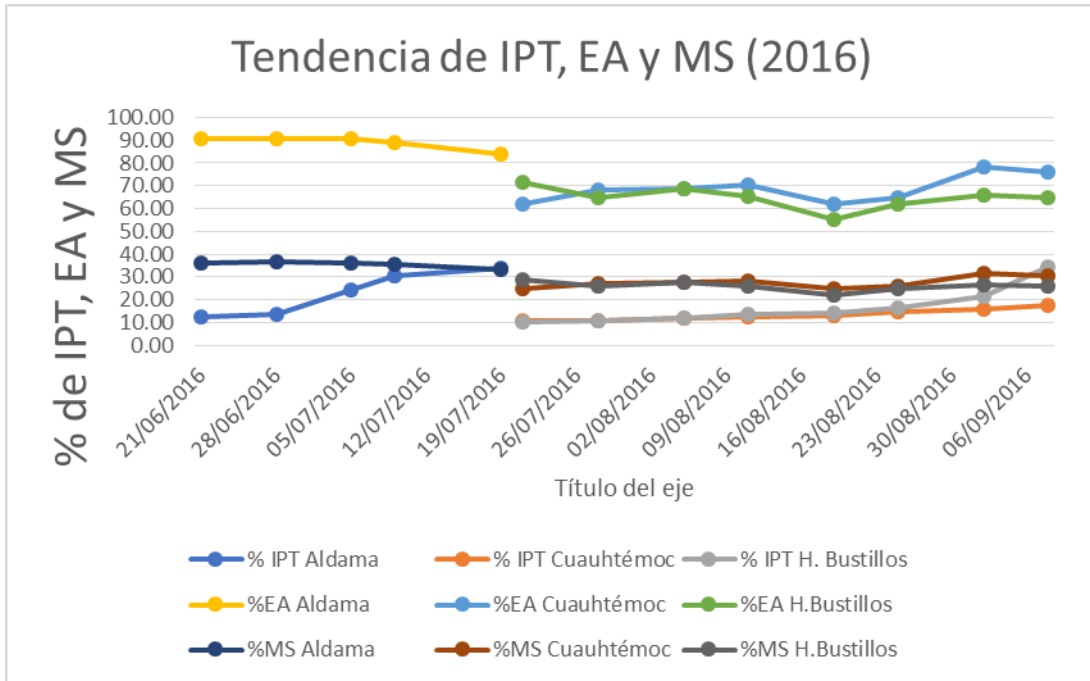


Figura 1. Tendencia índice polifenoles totales, extractabilidad de la semilla y madurez de la semilla (2016).

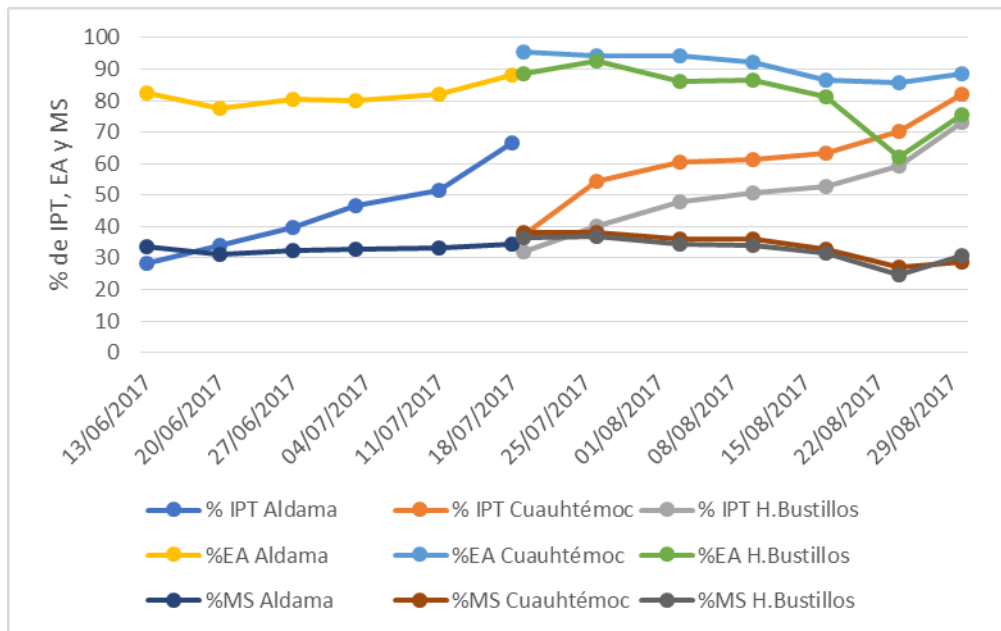


Figura 2. Tendencia índice polifenoles totales, extractabilidad de la semilla y madurez de la semilla (2017).

En las figuras 3 y 4 se observa la tendencia de los polifenoles totales desde el envero hasta su madurez teniendo una similitud en la tendencia ascendente en los dos años, observándose una

tendencia similar en el año 2016 y 2017 claramente en el viñedo ubicado en el municipio de Aldama las bayas se empiezan a colorear un mes antes.

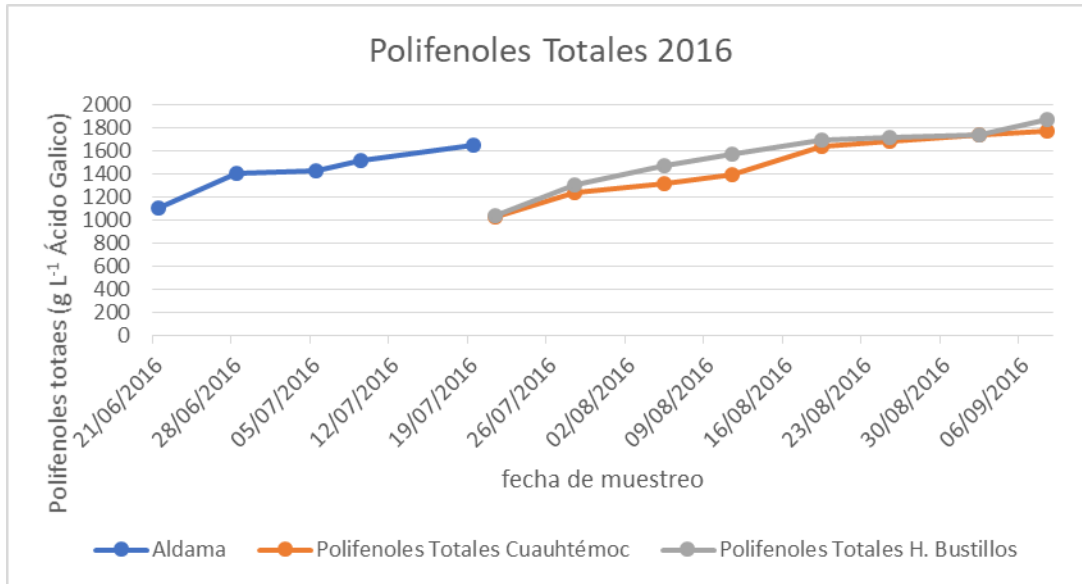


Figura 3. Polifenoles totales en gramos por litro de ácido gálico (2016).

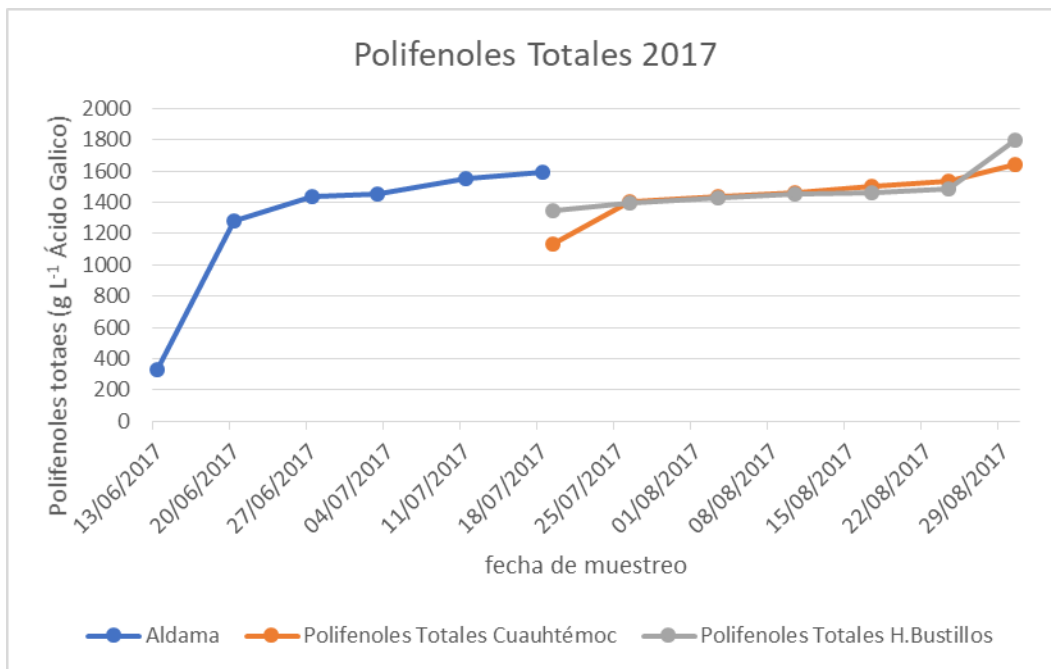


Figura 3. Polifenoles totales en gramos por litro de ácido gálico (2016).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que, de los viñedos evaluados, el viñedo ubicado en el municipio de Aldama presento mayor peso, pulpa y hollejo.

La madurez tecnológica y calidad de la baya óptima para vinificación se presentó en el viñedo los leones ubicado en el municipio de Aldama.

Los resultados de Grados Brix y ATT, que están por debajo del óptimo recomendado, se pueden corregir al momento de la vinificación.

En la madurez fenólica el viñedo ubicado en el municipio de Aldama presenta mejor extractabilidad de antocianos y una óptima madurez de la semilla.

El clima y precipitación que presentan los viñedos así como la altura sobre el nivel del mar en que se encuentran establecidos son decisivos para una óptima maduración de las bayas.

LITERATURA CITADA

Acosta, Z. D.; Macías, C. V.; Mendoza, E. L.; Cabello, P. A. 2013. Efecto de las aguas residuales tratadas sobre el crecimiento, fotosíntesis y rendimiento en vides Tempranillo (*Vitis vinífera* L.) en Baja California, México. *Agrociencia* 47 (8): 753-766.

Almanza, A. E.; Figueroa, G.; Alvarado, N. M.; Herrera, H. M.; Guzmán, M. S. 2012. Caracterización fisicoquímica de vinos tinto Malbec con diferente tiempo de añejamiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3 (7): 1347-1360.

Amerine, M.A., & Winkler, A.J. (1974). Composition and quality of musts and wines of California grapes. *Hilgardia, journal of agricultural science*, 15(6): 493-673.

Cañón, M.; Gonzalez, S.; Alcalde, A.; Bordeu, E. 2014. Red wine phenolic composition: the effect of summer pruning and cluster thinning. *Cien. Inv. Agr.* 41 (2): 235-248.

Flores, M. 2005. Variabilidad espacial del rendimiento de uva y calidad del mosto en cuarteles de vid cv. Cabernet sauvignon y Chardonnay en respuesta a la variabilidad de algunas propiedades del suelo. *Agricultura técnica Chile*. 65 (2): 210-220.

Garrido, I.; David, U.; Hernandez, M.; Llerena, J.; Valdés, E.; Espinoza, F. 2016. The evolution of total phenolic compounds and grapes (*Vitis vinífera* L. cv. Tempranillo) Grown in semiarid Region: Effects of Cluster Thinning and water Deficit. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (1): 1923.

Glories Y., Augustin M. 1993. Maturité phenolic du raisin, conséquences technologiques: application aux millésimes 1991 et 1992. *Compte Rendu Colloque Journée Techn CIVB, Bordeaux*. pp., 56-61.

González, N. G.; Ferrer, M.; Gil, G.; Charamelo, D.; Balado, J.; Barreiro, L.; Bochiechio, R.; Gatto, G.; Tessore, A. 2011. Estudio plurianual del potencial polifenólico de uvas Tannat en el sur de Uruguay. 14 (2): 10-21.

Gonzalez, N. G.; Gol, G.; Guzman, F.; Ferrer, M. 2011. Índices propuestos y posibles aplicaciones. *Comunicata Scientiae*, 2 (2): 57-69.

Hernández, A.; Alfaro, I.; Arrieta, R.; 2003. *Microbiología Industrial*. Editorial EUNED. 270. p.

Hernández, C. D.; Trujillo, N.; Yanine, Y.; Duran, O.; Daniel, S. 2011. Contenido fenólico e identificación de levaduras de importancia vínica de la uva Isabella (*Vitis labrusca*) procedente de Villa del Rosario (Norte de Santander). *Viate* 18 (1): 17-25.

Herrera, J.; Miño, J. 2011. Microvinificación en blanco a 18 °C de uva Isabella cultivada en misiones (NE Argentina). *Rev. Cienc. Tecnol.* 13 (15): 11-16.

Intrigliolo, S. D.; Castel, J. 2010. Response of grapevine cv. Tempranillo to timing and amount of irrigation: wáter relations, vine growth, yield and Berry and wine composition. 28 (1): 113-125.

Intrigliolo, S. D.; Perez, D.; Risco, A.; Yeves, A.; Castel, J. 2012. Yield components and grape composition responses to seasonal wáter déficits in Tempranillo grapevines. 30 (1): 339-349.

Muñoz, J. A.; Fernandez, G. A.; Ramos, E. F.; Ortiz, U. C. 2007. Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Rev. Soc. Quim.* 73 (1): 30-40.

Penso, G. A.; Citadin, I.; Castilho, M.; Luana, A.; Scariotto, S.; Chicoki, A.; Ambrosio, R. 2014. Study of the maturación of grapes (*Vitis vinífera* L.) grown in Dois Vizinhos, Paraná Semina. *Ciências Agrárias*, 35 (6): 3085-3097. Universidade Estadual de Londrina.

Salazar, P. C.; Aguirreola, J.; Sanchez, D.; Irigoyen, J.; Morales, F. 2010. Effects of clima change scenarios on Tempranillo grapevine (*Vitis vinífera* L.) ripening response to a combination of elevated CO₂ and temperaturas and moderate drought. *Plant soil.* 337 (1): 179-191.

Song, S.; Hernández, M.; Provedo, I.; Mendez, C. 2014. Segregation and associations of enological and agronomic traits in Graciano X Tempranillo wine grape progeny (*Vitis vinífera* L.) *Euphytica* 195 (1): 259-277.

Zoecklein, B; F. Kenneth, B. G.; Nury. 2001. Analisis y producción de vino. Editorial Acribia. Zaragoza España, 613. p.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES, GENOTIPOS Y SUBTIPOS DE *Cryptosporidium* spp EN BOVINOS Y AGUA SUPERFICIAL EN CULIACÁN, SINALOA.

Claudia Berenice De Dios Quiñonez¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Nohemi Castro del Campo¹, Miguel Angel Rodriguez Gaxiola¹, Nohelia Castro del Campo²

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAS, ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo

berenicededios91@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Cryptosporidium es un protozooario con una estructura quística la cual lo protege de condiciones ambientales como la desecación, la carencia de nutrientes, altas temperaturas, escasez de oxígeno y la respuesta inmune del huésped, este patógeno se caracteriza por una dosis infecciosa muy baja y una fuerte persistencia en el medio ambiente (Travaillé *et al.*, 2016), también se considera el parásito más infectivo en la industria del agua porque se le relaciona como agente etiológico responsable de epidemias en mamíferos y reptiles en diversas partes del mundo (Solarte *et al.*, 2006). En las unidades de producción de ganado bovino, los adultos son los principales portadores asintomáticos representando una fuente de infección en los animales recién nacidos (Castro-Hermida *et al.*, 2007), los adultos pueden eliminar al ambiente entre 2 millones y 16 billones de ooquistes/animal/día, por lo que la contribución de estos animales a la contaminación ambiental y en particular a las aguas superficiales podría ser importante en zonas ganaderas, otros factores que pueden influir es la edad del animal, sexo de este, limpieza de la unidad de producción entre otras (Farizawati *et al.*, 2005). Las pérdidas económicas debidas a las infecciones en becerros se encuentran relacionadas con la deshidratación asociada a diarrea, cólico y complicaciones de diversas etiologías, que pueden ocasionar la muerte; además de que los problemas diarreicos demandan costos especiales por alimentación con soluciones electrolíticas, fluidos terapéuticos, administración de fármacos, implemento de medidas de higiene, por tanto los costos en las unidades de producción se incrementan (Xiao y Fayer, 2008). En lo referente a la asociación de *Cryptosporidium* y el agua, se reporta una epidemia masiva en Milwaukee en 1993 la cual afectó a más de 400 000 personas por ingestión de agua contaminada con el protozooario, a pesar de este conocimiento, la criptosporidiosis es poco diagnosticada, los tratamientos están por debajo del óptimo, y las medidas preventivas son incompletas, incluso en entornos como los EE.UU., donde los diagnósticos modernos están ampliamente disponibles, las estimaciones señalan que sólo el 1% de los casos se diagnostican (Scallan *et al.*, 2011). Existen distintas especies de *Cryptosporidium* y hasta el momento solo se ha estudiado el genoma completo de 3 especies de *Cryptosporidium*: *C. parvum*, *C. hominis* y *C. muris* (Bankier *et al.*, 2003, Abrahamsen *et al.*, 2004, Xu *et al.*, 2004), los cuales están disponibles en la base de datos CryptoDB (Heiges *et al.*, 2006). Los genomas de *C. parvum* y *C. hominis* son genomas compactos de aproximadamente 9.2 Mpb distribuidas en 8 cromosomas. Ambas especies tienen un 95-97% de similitud en la secuencia de su ADN y su repertorio de genes es prácticamente idéntico, por lo que las diferencias fenotípicas entre ellas, tales como el rango de hospedadores, se deben probablemente a polimorfismos sutiles (Widmer y Sullivan 2012). El agua y el ganado bovino juega un papel importante en la transmisión de este parásito por este motivo el objetivo de este

trabajo es caracterizar especies, genotipos y subtipos de *Cryptosporidium* spp en bovinos y agua superficial en Culiacán, Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sinaloa se encuentra dentro de los cinco estados de mayor producción en carne bovina en el país. Debido a esto se genera una gran cantidad de heces; las cuales no tienen un manejo adecuado y llegan a las aguas superficiales aledañas a las unidades de producción y posteriormente a los canales de riego, llevando consigo distintos patógenos entre estos *Cryptosporidium* spp. el cual está considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como uno de los principales por transmisión hídrica, se asocia con ciertas características biológicas y epidemiológicas del parásito que facilitan la supervivencia de los ooquistes durante largos periodos en el ambiente, *Cryptosporidium parvum* y *Cryptosporidium hominis* son las especies con mayor número de reportes alrededor del mundo. Sin embargo, en nuestra región no se cuenta con reportes de genotipos de este parásito, siendo esto de suma importancia para encontrar una solución.

JUSTIFICACIÓN

Debido a los múltiples usos que tiene el agua superficial en nuestra región es importante conocer la caracterización molecular de las especies de *Cryptosporidium* spp presentes, y los bovinos al ser los animales que excretan el mayor número de ooquistes al ambiente forman un conjunto clave en la diseminación de este parásito.

HIPÓTESIS

En los bovinos y el agua superficial de la ciudad de Culiacán se encuentran ooquistes de *Cryptosporidium parvum*.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar especies, genotipos y subtipos de *Cryptosporidium* spp en bovinos y agua superficial en Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar las especies, genotipos y subtipos de *Cryptosporidium* spp de las muestras de heces de bovinos y muestras de agua.

Caracterizar de *Cryptosporidium* spp causantes de diarreas en unidades de producción bovina.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizará en el municipio de Culiacán el cual se encuentra geográficamente ubicado en las coordenadas 24° 47' 21.64" Norte y 107°22' 26.74" Oeste, con una altura de 76 msnm, con 33.3°C y 16.3°C como temperatura máxima y mínimas extrema; con 144, 159 y 92 días despejados, medio nublados y nublados al año, respectivamente; precipitación pluvial promedio anual de 676mm, con lluvias en verano (julio a septiembre), el

clima de la región es tropical seco (BWh y BSh) de acuerdo a la clasificación de Koeppen (INEGI, 2016).

Toma de muestra de las heces

Las heces se tomarán en guantes de látex directamente del ano de los bovinos, menores de 3 mes, posteriormente se refrigeraron en una hielera para transportarse al laboratorio para teñirlas por Ziehl-Neelsen y seleccionar las muestras positivas a las que se les realizarán las pruebas de biología molecular.

Tinción Ziehl-Neelsen para la identificación de *Cryptosporidium* spp en heces.

Las heces se colocarán en tubo de ensayo con agua destilada para posteriormente homogenizarla, el sobrenadante de esta solución se colocara en un portaobjetos para realizar un frotis por muestra la cual se fijará con metanol al 95 %, acto seguido se teñirá con Fucsina básica (Golden bell) durante 20 minutos, transcurrido el tiempo se lavará con agua corriente, se decolorará con ácido sulfúrico al 5 % por un minuto, después de esto nuevamente se lavará con agua corriente, y por último se le añadirá tinción verde malaquita (Golden bell) por 5 minutos, se lavará, se secará y observará al microscopio (Carl Zeiss Axiostar, Alemania) con objetivo de 100X (Henricsen y Pohlenz, 1981). Se determinará como positiva al identificar al menos un ooquiste, por observación de la correcta morfología, así como la estructura interna, tamaño forma descrita del protozooario (Fayer, 2010).

Toma de Muestra de Agua superficial

Se colectarán 250 mL de muestras de agua las muestras se transportarán en frascos estériles identificados, que se mantendrán en una hielera a 4 °C hasta su análisis en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Se realizará la identificación de *Cryptosporidium* spp. en el microscopio a 100x. Una muestra se considerará como positiva al identificar al menos un ooquiste, por observación de la correcta morfología, así como la estructura interna, tamaño forma descrita del protozooario (Fayer *et al.*, 2000).

Tinción de Kinyoun (modificada) para la identificación de *Cryptosporidium* spp en aguas.

Las muestras primero se procesarán con el método de Faust (Sulfato de Zinc al 44%) (Leventhal y Cheadle, 1992) para la recuperación de ooquistes; después, el sedimento obtenido se colocará en un frotis para ser teñido por la técnica de Kinyoun modificada (Baxby y Bundell, 1983).

Análisis de datos

La base de datos minitab se usará para calcular la prevalencias general y específica (UP, edad, sexo); asimismo para determinar la incidencia general y acumulada, de acuerdo con las fórmulas propuestas por Thrusfield (2005):

Prevalencia= No. de becerros positivos/Total de becerros muestreados.

Determinación de incidencia= No. de casos nuevos/ No. de individuos observados.

Incidencia acumulada= Recuento de eventos/No. de individuos de la población.

Los factores de riesgo se calcularon por la Razón de Momios (RM), al utilizar un método univariado (Thrusfield, 2005), con el programa Win Epicospe Ver 2.0.

$$RM = \frac{A/B}{C/D} = \frac{A \cdot D}{B \cdot C}$$

Donde:

A= animales enfermos expuestos

B= animales enfermos no expuestos

C= animales sanos expuestos

D= animales sanos no expuestos

Las variables analizadas fueron: edad, sexo, presencia de diarrea, fuente de agua, limpieza de los corrales y la interacción con otros animales, con el programa Win Epicospe Ver 2.0. (Thrusfield *et al.*, 2001) para obtener la Razón de Momios (RM), asimismo, se calcularon los intervalos de confianza con un 95% de confiabilidad.

Extracción de ADN

El ADN se extraerá por medio de la técnica fenol-cloroformo, utilizando 300 µl de concentrado de ooquistes, se agregará amortiguador de lisis (TE: tris 100mM y EDTA 10mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubará a 37°C con calor seco y a 56°C a calor húmedo por una h respectivamente. Se agregará fenol (1:1), se centrifugará por dos min a 12,000 RPM, se obtendrá el sobrenadante y se añadirá cloroformo (1:1), se centrifugará por dos min a 12,000 RPM se obtendrá el sobrenadante y se agregará etanol, se congelará a -20°C. Se centrifugará por 20 min, a 12,000 RPM y se decantará. A la pastilla obtenida se le agregará 50 µl de agua inyectable estéril. El ADN se observará en un gel de agarosa al 1% (Sambrook, *et al.*, 1989) teñido con gel red con luz ultravioleta (Crisafuli *et al.*, 2015).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El material genético extraído formará parte de una mezcla de reacción para PCR a 25 µl (Buffer 10X MgCl₂, dNTPs, H₂O inyectable estéril, Taq Polimerasa, oligonucleótidos y DNA). La reacción se llevará a cabo en un termociclador (BIORAD T100) para la amplificación del gen18SSU rDNA, se iniciara con un ciclo de desnaturalización de 94° por tres minutos seguido de 35 ciclos, de desnaturalización se utilizará a 94°C por 45 s, la alineación a 55°C por 45 s y la extensión a 72°C por 60 s, con una extensión final de 72°C por 7 min. Con los oligonucleótidos: Xiao F: 5´ TTCTAGAGCTAA TACATCCG 3´y Xiao R: 5´ CCCATTTCTTCGAAACAGGA 3´ (Xiao *et al.*, 2004). Además se utilizarán un par de oligonucleótidos específicos para *C. parvum* en PCR anidado el cebador directo Xiao 1 (R) 5´AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA 3´ y el inverso Xiao 2 (F) 5´GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG 3´ utilizando el protocolo del PCR inicial .Los productos de PCR y PCR Anidado se revelarán en geles de agarosa al 1% teñido con Gel Red y se visualizarán en un transluminador ultravioleta.

LITERATURA CITADA

Travaillé E., La Carbona S., Gargala G., Aubert D., Guyot K., Dumetre A., Villena I., Houssin I. 2016. Development of a qRT-PCR method to assess the viability of *Giardia intestinalis* cysts, *Cryptosporidium* spp. and *Toxoplasma gondii* oocysts: *Food Control*. 59:359-365.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.007>

Solarte Y., Peña M., Madera C., 2006. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo. *Colombia Medica*. 37: 17-21.

Castro-Hermida, J.A.; González-Warleta, M.; Mezo, M. 2007. Natural infection by *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in sheep and goats in Galicia (NW Spain). *Small Ruminant Research*. 72: 96-100.

[10.1016 / j.smallrumres.2006.08.008](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.08.008)

Farizawati S.; Lim A.Y.L.; Ahmad R.A.; Fatimah C.T.N.I.; Siti-Nor, Y., 2005. Contribution of cattle farms towards river contamination with *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Sungai Langat Basin. *Tropical Biomedicine*. 22: 89-98.

ISSN 0127-5720

Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Taxa R., Widdowson M., Griffin J. 2011. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerg Infect Dis*; 17: 7–15.

[10.3201/eid1701.091101p1](https://doi.org/10.3201/eid1701.091101p1)

Xiao L., Fayer R., 2008. Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *International J. Parasitol*. 38:1239–1255. [10.1016/j.ijpara.2008.03.006](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.006)

Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Taxa R., Widdowson M., Griffin J. 2011. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerg Infect Dis*; 17: 7–15.

[10.3201/eid1701.P11101](https://doi.org/10.3201/eid1701.P11101)

Bakheit, M. A., Torra, D., Palomino, L. A., Thekisoe, O. M., Mbatia, P. A., Ongerth, J. y Karanis, P. 2008. Sensitive and specific detection of *Cryptosporidium* species in PCR-negative samples by loop-mediated isothermal DNA amplification and confirmation of generated LAMP products by sequencing. *Vet Parasitol*: 158 (1- 2): 11-22.

[10.1016/j.vetpar.2008.09.012](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.012)

Abrahamsen, M. S., Templeton, T. J., Enomoto, S., Abrahante, J. E., Zhu, G., Lancto, C. A., Deng, M., Liu, C., Widmer, G., Tzipori, S., Buck, G. A., Xu, P., Bankier, A. T., Dear, P. H., Konfortov, B. A., Spriggs, H. F., Iyer, L., Anantharaman, V., Aravind, L. y Kapur, V. 2004. Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science*: 304 (5669): 441-445.

[10.1126/science.1094786](https://doi.org/10.1126/science.1094786)

Xu, P., Widmer, G., Wang, Y., Ozaki, L. S., Alves, J. M., Serrano, M. G., Puiu, D., Manque, P., Akiyoshi, D., Mackey, A. J., Pearson, W. R., Dear, P. H., Skotarczak, B. 2010. Progress in the molecular methods for the detection and genetic characterization of *Cryptosporidium* in water samples. *Ann Agric Environ Med*: 17 (1): 1-8.

[10.1645/GE-2052.1](https://doi.org/10.1645/GE-2052.1)

Heiges, M., Wang, H., Robinson, E., Aurrecochea, C., Gao, X., Kaluskar, N., Rhodes, P., Wang, S., He, C. Z., Su, Y., Miller, J., Kraemer, E. y Kissinger, J. C. 2006. CryptoDB: a Cryptosporidium bioinformatics resource update. *Nucleic Acids Res*: 34 (Database issue): D419-422.

[10.1093/nar/gkj078](https://doi.org/10.1093/nar/gkj078)

Widmer, G. y Sullivan, S. 2012 Genomics and population biology of *Cryptosporidium* species. *Parasite Immunol*: 34 (2-3): 61-71.

[10.1111/j.1365-3024.2011.01301.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2011.01301.x)

INEGI. 2016. Anuario estadístico y geográfico de Sinaloa 2016. Obtenido 25 de Febrero 2019 disponible en:

http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/Productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvini/egi/productos/nueva_estruc/anuarios_2016/702825083687.pdf

Henricsen, S. A. Pohlenz, J.F.L. 1981. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta. Vet. Scand.* 22: 594-596.

<http://garfield.library.upenn.edu/classics1991/A1991GA09700001.pdf>

Fayer R., Morgan U., Upton S.J. 2000. Epidemiology of *Cryptosporidium*: Transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.* **30**: 1305-1322.

[https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00135-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00135-1)

Fayer, R. 2010. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124: 90-97.

[10.1016/j.exppara.2009.03.005](https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.005).

Leventhal R., Cheadle R. 1992. *Parasitología Médica*. 3a. Edición, México: Ed. Interamericana, Mc Graw-Hill.

[10.32776/revbiomed.v17i2.443](https://doi.org/10.32776/revbiomed.v17i2.443)

Baxby D., Blundell N. 1983. Sensitive, rapid, simple methods for detecting *Cryptosporidium* in feces. *Lancet*. 1149:1151.

<https://doi.org/10.1017/S0022172400064858>

Thrusfield M., Ortega C., De Blas I., Noordhuizen J.P., Frankena K. 2005. Win Episcopo 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet Rec.* **148**:567-572.

<http://dx.doi.org/10.1136/vr.148.18.567>

Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T. 1989. En: *Molecular cloning. Laboratory manual*. 2da. edition. Cold spring Harbor laboratory press.

RELACIÓN GENÉTICA DE *Babesia* spp EN SANGRE DE HUMANOS, PERROS Y *Rhipicephalus sanguineus* Y PROBABLE FUENTE DE INFECCIÓN

Natalia Heredia Burgos¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Luis Tinoco Gracia², Nohemí Castro del Campo¹, Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola¹.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAS,

²Departamento de Salud Animal-UABC.

naty_heredia@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Babesia spp. son hemoparásitos protozoarios intraeritrocíticos (Vannier *et al.*, 2015), miembros del phylum Apicomplexa, orden Piroplasmida, familia Babesiidae (Rodríguez, 2007), transmitidos principalmente por picaduras de garrapatas, es de gran impacto económico, veterinario y médico en el mundo (Schnittger *et al.*, 2012; Óralić *et al.*, 2018). El principal transmisor de babesiosis canina es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* o mecánicamente por transfusión de sangre de animales infectados (Solano-Gallego *et al.*, 2016). En babesiosis humana es común el contagio después de un trasplante de órgano o congénitamente durante el embarazo (Hunfeldt *et al.*, 2008; Vannier *et al.*, 2015; Ord y Lobo, 2015; Brennan *et al.*, 2016).

La babesiosis canina es una enfermedad emergente de gran importancia veterinaria en el mundo (Araujo *et al.*, 2015), esta enfermedad en México se encuentra subdiagnosticada, debido a la falta de estudios epidemiológicos que demuestren su prevalencia (Lira-Amaya *et al.*, 2015). La babesiosis canina es una enfermedad emergente parasitaria en animales y humanos causada por protozoarios de las diferentes especies del género *Babesia* (*B. canis*, *B. vogeli*, *B. gibsoni* y *B. microti*) (Ogo *et al.*, 2011; René *et al.*, 2012; Solano-Gallego *et al.*, 2016; Nayyar *et al.*, 2019; Veneziano *et al.*, 2018).

A nivel mundial se ha detectado la presencia de diferentes especies de *Babesia* en la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* recolectadas en perros y sangre de perros, por PCR como *Babesia vogeli* en México, Brasil, Israel, África, Taiwán, Francia, Palestina y Paraguay (Harrus *et al.*, 2011; René *et al.*, 2012; Lira-Amaya *et al.*, 2015; Araujo *et al.*, 2015; Li-Lian *et al.*, 2016; Inácio *et al.*, 2019), *Babesia gibsoni* en Taiwán y Gran Bretaña (Smith *et al.*, 2013; Li-Lian *et al.*, 2017), *Babesia microti* y *Babesia canis* en Italia (Iori *et al.*, 2010).

La babesiosis humana es una zoonosis emergente causada por parásitos protozoarios intraeritrocíticos del género *Babesia* (Asensi *et al.*, 2018), *Babesia divergens*, *Babesia microti* (Sánchez *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2018; Svensson *et al.*, 2019), sin embargo Fritz (2009) describió que la babesiosis canina como zoonótica, los casos reportados de babesiosis humana son de Francia y son causados por *Babesia canis* (Marsaudon *et al.*, 1995; Mihaljica *et al.*, 2012), indicando el posible cruce de las barreras de las especies y su potencial zoonótico (Mihaljica *et al.*, 2012).

La incidencia de los casos de babesiosis en humanos está asociado con la cercanía a zonas de bosques, donde además hay altas temperaturas y humedad, lo cual propician la presencia del

vector (Diuk-Wasser *et al.*, 2014). Se ha identificado en mayor proporción en personas que desarrollan algún tipo de actividad asociada con la ganadería, como en médicos veterinarios, vacunadores y obreros pecuarios, estos individuos los más expuestos al vector (Gabrielli *et al.*, 2014).

El primer caso de babesiosis humana se informó en un pastor croata en 1957 el cual fue causado por *Babesia divergens* (Skrabalo y Deanovic, 1957; Huang *et al.*, 2018).

En Latinoamérica se han realizado dos estudios donde se estudió la seroprevalencia en población humana relacionada con la ganadería, el estudio de la seroprevalencia fue de las especies *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, en Cuba 60% y 40% respectivamente (Suarez y Pelaez, 1997), y en Venezuela 22.1% y 45,5% respectivamente (López y Montenegro, 1998). Colombia en el 2003, reportó por primera vez una serie de casos de babesiosis, por las especies *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* (Ríos-Osorio *et al.*, 2003).

En un estudio realizado en Connecticut con donantes de sangre en el año 1999, encontraron un 53% positivos para *Babesia* mediante la técnica PCR y microscopia (Gubernot *et al.*, 2009). En México se realizó un estudio donde se estableció en caninos una seroprevalencia de *Babesia canis* del 37% (Osorno y Vega, 1976).

Existen reportes de casos clínicos de babesiosis humana, Peniche-Lara *et al* reportó en 2018 cuatro casos de *Babesia microti* en niños en el estado de Yucatán, México, Asensi *et al.*, (2018), reportó un caso clínico de un humano infectado por *Babesia divergens* en el norte de España. Huang *et al.*, (2018) reportó un caso por *B. microti* en China, también Forrester *et al.*, (2015), reportó un caso de *Babesia microti* en la ciudad de Nueva York. En Montenegro España, Andrić *et al.*, (2012). Guerrero *et al.*, (2017) reportaron un caso por *Babesia* spp., recolectaron información de casos clínicos reportados en diferentes hospitales de España observaron a 10 personas 8 eran hombres y 2 mujeres.

Gabrielli *et al.*, (2014) realizó un estudio en el norte de Italia en el cual se encontraron anticuerpos en humanos de diferentes especies de *Babesia* entre ellas se encontraban *B. microti*, *B. bovis*, *B. canis* y *T. equi*. De hecho, la FDA informó que *B. microti* es el patógeno más frecuentemente transmitido por transfusión de sangre en los EE. UU (Fang and McCullough, 2016; Levin *et al.*, 2016)

La babesiosis es una infección generalmente asintomática, el extendido de sangre periférica no tiene la capacidad de detectar la infección en estos casos, debido a la baja parasitemia, por lo que se sugiere hacer diagnóstico molecular a individuos donantes de sangre (Levin *et al.*, 2014).

Babesia son los parásitos sanguíneos más extendidos en el mundo y como tales tienen considerable impacto económico, médico y veterinario a nivel mundial (Mihaljica *et al.*, 2012).

En las últimas décadas, la babesiosis se ha convertido en un problema emergente de salud en los seres humanos, y la enfermedad es frecuente en América del Norte y Europa (Vannier *et al.*, 2012), los perros al ser animales de compañía comparten el mismo ambiente con los humanos, por lo cual poseen la capacidad de intercambiar ectoparásitos con las personas, constituyendo un importante reservorio de patógenos causantes de enfermedades zoonóticas como la

babesiosis (Pereira *et al.*, 2015), y debido a la principal causa de la babesiosis humana es por la picadura de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, el cual es un vector presente en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, y que en los perros se presenta la enfermedad, de 2008 2018 el Laboratorio de Parasitología de la UAS reporto que se presentaron 2302 casos de babesiosis en perros diagnosticados por medio de frotis sanguineo, además de que Heredia *et al.*, (2018) detecto *Babesia vogeli* en perros y garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* por PCR, el objetivo de este trabajo es relacionar las especies de *Babesia* detectadas genéticamente en humanos y perros de Culiacán, Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La babesiosis humana es un problema emergente de salud en los seres humanos y la enfermedad es frecuente en América del Norte y Europa, y debido a que los perros son animales de compañía comparten el mismo ambiente con los humanos, por lo cual poseen la capacidad de intercambiar ectoparásitos con las personas, constituyendo un importante reservorio de patógenos causantes de enfermedades zoonóticas como la babesiosis canina.

JUSTIFICACION

Debido a que la principal causa de la babesiosis es por la picadura de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, además de que el vector está presente en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, y que los perros presentan la enfermedad es importante estudiar la relación genética de la babesiosis humana y la canina.

HIPÓTESIS

La *Babesia* detectada genéticamente en humanos se relaciona genéticamente con la detectada en perros y garrapatas *Rhipicephalus* en Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVO GENERAL

Identificar la relación genética de las especies de *Babesia* en humanos, perros y *Rhipicephalus sanguineus* de Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificación de *Babesia spp.* genéticamente en humanos.

Identificar *Babesia* genéticamente, en perros.

Identificar *Babesia spp* genéticamente en *Rhipicephalus sanguineus*.

Detectar la relación de *Babesias* entre humanos, perros y garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización geográfica

El siguiente estudio se va a realizar en la ciudad de Culiacán, Sinaloa localizada entre los paralelos 24° 02' y 25° 17' de latitud norte; los meridianos 106° 52' y 107° 49' de longitud oeste; altitud entre 0 y 1800m. con rango de temperatura de 18-26°C y rango de precipitación de 400-1100mm (INEGI, 2011). Las muestras se van a analizar en el laboratorio de parasitología de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Tipo de estudio

Observacional, transversal por conveniencia (Thursfield, 2005).

Recolección de muestras

El muestreo se llevará a cabo en los años 2019 y 2020, para la recolección de las muestras se tomará en cuenta los humanos donadores de sangre los cuales estén o hayan sido parasitados con garrapatas, las muestras serán recolectadas de hospitales públicos de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, se incluirá una encuesta en la cual se recolectarán datos sobre los donadores (edad, sexo, colonia en la que habita y si tiene mascotas en casa) para realizar un estudio epidemiológico. La recolección de muestras de sangre de humanos se obtendrán de las venas cefálica utilizando tubos de extracción de sangre con anticoagulante EDTA. En el caso de que los donadores tengan mascotas en casa se le solicitará una muestra sanguínea de la mascota la cual será tomada de la vena cefálica o yugular y se recolectarán garrapatas si las mascotas se encuentran parasitadas.

Extracción de ADN de la muestra de sangre

Se obtendrá el ADN mediante la técnica fenol-cloroformo. A 300 µl de sangre completa, se agregará amortiguador de lisis (TE: tris 100 mM y EDTA 10 mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubará a 37°C con calor seco y a 56°C con calor húmedo por 1 h respectivamente. Se agregará fenol (1:1), se centrifugará por 2 min a 12000 RPM, se obtendrá el sobrenadante y se añadirá cloroformo (1:1), se centrifugará por 2 min a 12000 RPM, se obtendrá un sobrenadante y se añadirá etanol, se congelará por 20 min a -80°C. Se centrifugará por 20 min a 12000 RPM y se decantará. A la pastilla obtenida se le agregará 50 µl de agua inyectable estéril (Sambrook *et al.*, 1989). El ADN obtenido se observará en un gel de agarosa al 1% teñido con Gel Red en lámpara de luz ultravioleta (Huang, 2010).

Amplificación del ADN por PCR de *Babesia* spp.

El ADN extraído de las muestras de sangre se usarán como molde para amplificación por PCR. Se amplificara el fragmento específico que codifica el gen rRNA 18S para *Babesia* spp. utilizando los primers (5'-CCGTGCTAATTGTAGGGCTAATACA-3') y (5'-GCTTGAAACACTCTARTTTCTCAAG-3') los cuales amplifican a 551pb (Araujo *et al.*, 2015.)

Los productos de PCR se mandarán a secuenciar a la empresa MacroGen Corporation 1330 Piccard Dr. STE 205 Rockville, MD 20850 USA. El análisis *In Silico* se realizará con la edición de las secuencias en los programas en línea BioEdit y OligoAnalyzer 3.1 <https://www.idtdna.com/calc/analyzer>. Las identidades de las secuencias se comprobarán en el programa en línea BLASTn https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch y el análisis filogenético se realizará en MEGA 6. El árbol filogenético se realizará por el método NJ (*Neighbor Joining*) descrito por Saitou y Nei (1987).

LITERATURA CITADA

Andrić B., Golubović D., Dupanovic B., Icevic M. 2012. First diagnostic cases of human babesiosis in Montenegro. *Infectious Diseases*, 16 (5): 498-499. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2012.04.001>.

Araujo A., Silveira J., Azevedo S., Nieri F., Ribeiro M., Labruna M. 2015. *Babesia canis vogeli* infection in dogs and ticks in the semiarid region of Pernambuco, Brazil. *Pesquisa veterinária brasileira*, 35 (5): 456-461. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2015000500012>.

Asensi V., González L., Fernández-Suárez J., Sevilla E., Álvarez R., Suárez M., Lauret M., Bernardo A., Carton J., Montero E. 2018. A fatal case of *Babesia divergens* Infection in Northwestern Spain. *Tick and Tick-borne Diseases*, 9 (3): 730-734. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.02.018>.

Brennan M., Herwaldt B., Kazmierczak J., Weiss J., Klein C., Leith C., He R., Oberley M., Tonnetti L., Wilkins P., Gauthier G. 2016. Transmission of *Babesia microti* parasites by solid organ transplantation. *Emerging Infectious Diseases journal*, 22: 1869–1876. <https://doi.org/10.3201/eid2211.151028>.

Ćoralčić A., Gabrielli S., Zahirović A., Stojanović N., Milardi G., Jažić A., Zuko A., Čamo D., Otašević S. 2018. First molecular detection of *Babesia canis* in dogs from Bosnia and Herzegovina. *Ticks and tick-borne Diseases*, 9: 363-368. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.11.013>.

Diuk-Wasser M., Liu Y., Steeves T., Keefe C., Dardick K. 2014. Monitoring Human Babesiosis Emergence through Vector. *Emerging Infectious Diseases*, 20(2): 225–31. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2002.130644>.

Fang D.C., McCullough J. 2016. Transfusion-Transmitted *Babesia microti*. *Transfusion Medicine Reviews*. 30:132–138. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2016.04.002>

FDA, US Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability/ReportaProblem/TransfusionDonationFatalities/UCM459461.pdf>.

Forrester K., Franco L., Postelnicu R., Jacobs R. 2015. Haematologic complications from human babesiosis: a case report. *New Microbes and New Infections*, 8: 148-149. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmni.2015.10.008>.

Fritz C. 2009. Emerging tick-borne diseases. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 39: 265-278.

Gabrielli, S., Calderini, P., Cassini, R., Galuppi, R., Tampieri, P., Pietrobelli, M., Cancrini, G. 2014. Human exposure to piroplasms in Central and Northern Italy. *Veterinaria Italiana*, 50 (1): 41-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.10.019>.

Gubernot D., Nakhasi H., Mied P., Asher D., Epstein J., Kumar S. 2009. Transfusion-transmitted babesiosis in the United States. *Transfusion*, 49(12): 2759–2771. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02429.x>.

Guerrero A., Muñoz C., Tomás S. 2017. Incidence of human babesiosis in Spain obtained from the diagnoses at hospital discharge. *Medicina Clínica*, 149: 84-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcle-2017.03.017>.

Harrus S., Perlman-Avrahami A., Mumcuoglu K., Morick D., Eyal O., Braneth G. 2011. Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma platys*, *Candidatus midichloria mitochondrii* and *Babesia canis vogeli* in ticks from Israel, *Clinical microbiology and infection*, 17 (3): 459- 463. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03316.x>.

Heredia, B., Gaxiola, S., Enríquez, I., Castro, N., Ascención, J. 2018. Detección de *Babesia* spp en *Rhipicephalus sanguineus* y sangre de caninos en Culiacán, Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa.

Huang Q., Baum L., Fu W.L., 2010. Simple and Practical Staining of DNA with GelRed in Agarosa Gel Electrophoresis. *Clinical Laboratory*, 56: 149 – 152.

Huang S., Zhang L., Yao L., Li J., Chen H., Ni Q., Pan C., Jin L. 2018. Human babesiosis in Southeast China: a case report. *International Journal of Infectious Diseases*, 68: 36-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2018.01.004>.

Hunfeld K., Hildebrandt A., Gray J., 2008. Babesiosis: recent insights into an ancient disease. *International Journal for Parasitology*, 38: 1219–1237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.03.001>.

Inácio E., Pérez-Macchi S., Alabi A., Bittencourt P., Müller A. 2019. Prevalence and molecular characterization of piroplasmids in domestic dogs from Paraguay. *Tick and Tick-borne Diseases*, 10: 321- 327. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.009>.

INEGI. 2011. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Gobierno de México. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Sinaloa. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/>.

Iori A., Gabrielli S., Calderini P., Moretti A., Pietrobelli M., Tampieri M., Galuppi R., Cancrini G. 2010. Tick reservoirs for piroplasms in central and northern Italy. *Veterinary parasitology*, 170: 291-296. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.02.027>

Levin A., Williamson P., Erwin J., Cyrus S., Bloch E., Shaz B. 2014. Determination of *Babesia microti* seroprevalence in blood donor populations using an investigational enzyme immunoassay. *Transfusion*, 54(9): 2237– 2244. <https://doi.org/10.1111/trf.12763>

- Levin A.E., Williamson P.C., Bloch E.M., Clifford J., Cyrus S., Shaz B.H., Kessler D., Gorlin J., Erwin J.L., Krueger N.X., Williams G.V., Penezina O., Telford S.R. t. Branda J.A., Krause P.J., Wormser G.P., Schotthoefler A.M., Fritsche T.R., Busch M.P. 2016. Serologic screening of United States blood donors for *Babesia microti* using an investigational enzyme immunoassay. *Transfusion*, 56 (7): 1866–1874. <https://doi.org/10.1111/trf.13618>.
- Li-Lian C., Chien-Ming S. 2016. Molecular analysis of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), an incriminated vector tick for *Babesia vogeli* in Taiwan. *Experimental and applied acarology*, 70: 469-481. <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0094-6>.
- Li-Lian C., Hsin-Ting L., Tsung-Yu H., Chien-Ming S. 2017. First detection and molecular identification of *Babesia gibsoni* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Acta tropica*, 166: 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.022>.
- Li-Lian C., Shu-Ting Y., Chin-Kuei H., Chien-Ming S. 2016. First detection and molecular identification of *Babesia vogeli* from *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Taiwan. *Experimental and applied acarology*, 68: 539-551. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-0010-5>.
- Lira-Amaya J., Álvarez-Martínez J., Rojas-Martínez C., Martínez F., Figueroa-Millán J., Bautista-Garfias C. 2015. Detección de parásitos hemotrópicos caninos en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus*. *Etomología Mexicana*, 2 (2): 714-720.
- Lopez R. y Montenegro S. 1998. Seroprevalencia de babesiosis humana en Venezuela. *Veterinary Tropical Services*, 13: 93–101.
- Marsaudon, E., Camenen, J., Testou, D., Bourrée, P., Samson, P., Luneau, F. 1995. *Babesia canis* human babesiosis causing a 40-day anuria. *Annales de médecine interne*. 146: 451-452.
- Mihaljica D., Radulović Ž., Tomanović S., Ćakić S., Penezić A., Milutinović. 2012. Molecular detection of *babesia* spp. in ticks in northern Serbia. *Archives of Biological Science Belgrade*, 64 (4): 1591- 1598. <https://doi.org/10.2298/ABS1204591M>.
- Nayyar H., Ijaz M., Hussain S., Ali A., Ghaffar A., Saleem S., Kashif M., Umair M., Ghani U., Rafi M., Manzoor H. 2019. A comprehensive review on past, present and future aspects of canine theileriosis. *Microbial Phathogenesis*, 126: 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.033>
- Ogo N., Lawal A., Okubanjo O., Kamani J., Ajayi O. 2011. Current status of canine Babesiosis and the situation in Nigeria. *Nigerian Veterinary Journal*, 32 (2): 69-78.
- Ord R. y Lobo C., 2015. Human babesiosis: pathogens, prevalence, diagnosis and treatment. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2: 173–181. <https://doi.org/10.1007/s40588-015-0025-z>.
- Osorno M. y Vega C. 1976. Isolation of *Babesia* spp. from asymptomatic human beings. *Veterinary Parasitology*, 2 (1): 111–20. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(76\)90057-1](https://doi.org/10.1016/0304-4017(76)90057-1).
- Peniche-Lara G., Balmaceda C., Perez-Osorio C., Munoz-Zanzi C. 2018. Human babesiosis, Yucatán state, México, 2015, *Emerging Infectious Diseases*, 24(11): 2061-2062. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2411.170512>.

- Pereira A., Borges F., Bahia M., Silveira I., Moraes-Filho J., Soares J., Spolidorio G., Nogueira R. 2015. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. Among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 24 (1): 28-35. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015008>.
- René M., Chêne J., Beauvils J., Valiente M., Bourdoiseau G., Mavingui P., Chabanne L. 2012. First evidence and molecular characterization of *Babesia vogeli* in naturally infected dogs and *Rhipicephalus sanguineus* ticks in southern France. *Veterinary parasitology*, 187: 399-407. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.01.030>.
- Ríos-Osorio L., Alvarez G., Blair S. 2003. Serological and parasitological study and report of the first case of human babesiosis in Colombia Estudio serológico e parasitológico e relato do primeiro caso de babesiose humana na Colômbia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36 (4): 493–8. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000400010>.
- Rodríguez A. 2007. Epidemiología de la babesiosis: Zoonosis emergente. *Acta científica estudiantil*, 5 (4): 132-138.
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T., 1989. En: *Molecular cloning. Laboratory manual*. 2a. Ed. Cold spring Harbor laboratory press.
- Sanchez E., Vannier E., Wormser G., Hu L. 2016. Diagnosis, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis. *The Journal of the American Medical Association*, 315 (16): 1767. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.2884>.
- Schnittger, L., Rodríguez, A., Florin-Christensen, M., Morrison, D. 2012. *Babesia*: a world emerging, *Infection. genetics and evolution*, 12: 1788-1809. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2012.07.004>.
- Skrabalo Z. y Deanovic Z. 1957. Piroplasmosis in man; report of a case. *Doc Med Geogr Trop*, 9(1): 11–16.
- Smith F., Ellse L., Wall R. 2013. Prevalence of *Babesia* and *Anaplasma* in ticks infesting dogs in Great Britain. *Veterinary parasitology*, 198: 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.026>.
- Solano-Gallego L., Roura X., Estrada-Peña A., Miró G. 2016. A review of canine babesiosis: The European Perspective. *Parasites & Vectors*. 9: 336. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1596-0>.
- Suarez M. y Pelaez R. 1997. Pesquisaje de *Babesia* en trabajadores agropecuarios y donantes en la provincia de Ciego de Ávila. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 49(2): 390.
- Svensson J., Klaus-Peter H., Persson K. 2019. High seroprevalence of *Babesia* antibodies among *Borrelia burgdorferi* infected humans in Sweden. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 10: 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.10.007>.
- Thursfield. 2005. *Veterinary Epidemiology*. 3a Ed. Blackwell publishing, 349-368.
- Vannier E. y Krause P. 2012. Human babesiosis. *The New England Journal of Medicine*, 366 (25): 2397–407. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.03.010>.

Vannier E., Diuk-Wasser M., Mamoun C., Krause P., 2015. Babesiosis. *Clinical Infectious Diseases*, 29: 357–370, <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.02.008>.

Veneziano V., Piantedosi D., Ferrari N., Neola B., Santoro M., Pacifico L., Sgroi G., D'Alessio N., Panico T., Leutenegger C., Tyrrell P., Buch J., Breitschwerdt E., Chandrashekar R. 2018. Distribution and risk factors associated with *Babesia* spp. Infection in hunting dogs from Southern Italy. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 9: 1459-1463. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.07.005>

PRODUCCIÓN, ASIMILACIÓN Y CARGA AMBIENTAL DE FÓSFORO (P): MONOCULTIVO DE CAMARÓN vs CULTIVO ACUAPONICO CAMARÓN-ALBAHACA

Suammy Gabriela Alarcón Silvas¹, Carmen Cristina Osuna Martínez², Federico Páez Osuna³, Jesús Armando León Cañedo⁴, Juan Francisco Fierro Sañudo⁴

¹ Posgrado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar.
suammy_yg@hotmail.com

² Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

³ Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, Unidad Académica Mazatlán.

⁴ Posgrado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa.

RESUMEN

La baja asimilación del fósforo (P) en la camaricultura provoca que los efluentes generados por la actividad sean ricos en P, por lo que, su descarga contribuye al proceso de eutrofización de los cuerpos receptores. Esto ha ocasionado la búsqueda de alternativas que permitan un mejor aprovechamiento del nutriente, y en consecuencia, un menor impacto ambiental, como la acuaponía. Bajo este contexto, se desarrolló un sistema que integra el cultivo de camarón con albahaca, utilizando agua de pozo y agua de mar diluida a 2,700 $\mu\text{S}/\text{cm}$, con el objetivo de evaluar la factibilidad del cultivo camarón-albahaca y el beneficio que representa la integración de la albahaca en términos de producción, asimilación y carga ambiental de fósforo en comparación con el monocultivo tradicional. La producción obtenida fue de 2.0 y 1.7 kg de camarón y 10.1 y 6.2 kg de albahaca para agua de pozo y mar diluida, respectivamente. El P asimilado por el camarón fue de 15.9 y 16.5 % y el de la albahaca de 16.2 y 12.7 % para agua de pozo y mar diluida, respectivamente. La carga ambiental fue de 10.6 y 10.4 g P/ kg de camarón y de 1.5 y 2.0 g P/ kg de camarón-albahaca para agua de pozo y mar diluida, respectivamente. En conclusión, el cultivo propuesto genera el fósforo suficiente para la producción de biomasa adicional, esto implica que un mayor porcentaje del fósforo sea asimilado y disminuyendo su carga ambiental, lo que resulta en un sistema más sustentable.

Palabras clave: acuaponía, eutrofización, sustentabilidad

ABSTRACT

The shrimp culture causes effluents enriched in phosphorus (P) due to its low assimilation. This input of P contributes to the eutrophication process of the receptor waters. This has led to develop alternatives that allow an efficient use of the nutrient, and consequently, a lower environmental impact, such as aquaponics. In this project, a shrimp culture with basil were developed using well water and diluted seawater at 2,700 $\mu\text{S}/\text{cm}$. The aim of this study is to evaluate feasibility of the shrimp-basil culture and the advantage of the integration of basil to the main culture (shrimp) in terms of production, assimilation and environmental load of phosphorus compared to traditional monoculture. The production was 2.0 and 1.7 kg of shrimp and 10.1 and 6.2 kg of basil for well water and diluted water, respectively. The P assimilated by the shrimp was 15.9 and 16.5% and that of the basil was 16.2 and 12.7% for well water and diluted water, respectively. The environmental load was 10.6 and 10.4 g P / kg of shrimp and 1.5 and 2.0 g P /

kg of shrimp-basil for well water and diluted sea, respectively. We can conclude that the proposed shrimp culture generates sufficient phosphorus for additional biomass production. This implies that a greater percentage of phosphorus is assimilated, improving the use efficiency of the nutrient and decreasing its environmental load, which ends in a more sustainable system.

Keywords: aquaponics, eutrophication, sustainability

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es la industria de producción de alimentos con mayor crecimiento y diversificación mundial, contribuyendo con el 46.8% a la producción pesquera total en 2016. Dentro de la acuicultura se encuentra la camaronicultura, que es el sector acuícola de mayor crecimiento e importancia económica, generando 4.9 millones de toneladas e ingresos superiores a los 29 billones de dólares en 2016 (FAO, 2018). Sin embargo, la camaronicultura tradicional se caracteriza tanto por tener un alto consumo de agua como por generar grandes cantidades de efluentes ricos en fósforo (producto de la baja asimilación por parte del organismo y las malas prácticas de manejo en el sistema). Ambos factores hacen que ejerza una fuerte presión sobre el recurso hídrico (competencia y contaminación) y sea considerada una actividad poco sustentable. Por lo tanto, hay una necesidad urgente de desarrollar una industria acuícola más sostenible, que use menos agua dulce y minimice la descarga de fósforo a los cuerpos de agua receptores (Páez-Osuna, 2001; Martínez-Córdova *et al.*, 2009; 2011; Hu *et al.*, 2015).

Para lograr la sustentabilidad de la acuicultura se ha planteado integrarla con otras actividades económicas que hagan uso de los mismos recursos (agua, suelo y nutrientes), lo cual supone un uso más eficiente de los mismos, por ende, un menor impacto ambiental y una mayor rentabilidad económica. La acuaponia resulta de integrar un sistema de recirculación acuícola (SRA) con un sistema hidropónico en un medio ambiente simbiótico. Definiendo acuicultura como el cultivo de organismos acuáticos en ambientes controlados e hidroponia como el cultivo de plantas, flores y hortalizas en sustratos inertes. El principio básico de la acuaponia radica en recircular el agua entre los dos sistemas para reciclar los nutrientes, convirtiendo así los desechos en recursos de alto valor y favoreciendo la conservación de los cuerpos de agua y la producción de alimentos (Rakocy, 2012; Love *et al.*, 2015). En los sistemas acuícolas solo una fracción (<25 %) del fósforo contenido en el alimento es convertido en biomasa, el resto genera un agua rica en nutrientes (producto de la excreción y mineralización de la materia orgánica), que si no se remueven podrían deteriorar la calidad del agua del cultivo. Por su parte, los sistemas hidropónicos requieren el uso de fertilizantes minerales para suministrar los nutrientes requeridos por las plantas. Sin embargo, en un sistema acuapónico, esta agua rica en nutrientes se utiliza como fertilizante para la producción hidropónica de plantas. A su vez, las plantas actúan como un filtro biológico, ya que, al absorber los nutrientes evitan que estos se acumulen, manteniendo la calidad del agua (Rakocy, 2007; 2012; Roosta y Hamidpour, 2011; Boyd y Tucker, 2014; Moya *et al.*, 2014; Goddek *et al.*, 2015; Yildis *et al.*, 2017).

De esta manera, los sistemas acuapónicos permiten que un mayor porcentaje de los nutrientes sea recuperado como biomasa, minimizan la demanda de agua e incrementan la rentabilidad al

producir simultáneamente dos o más cultivos, disminuyen la cantidad de efluentes desechados y la carga ambiental de nutrientes por unidad de biomasa producida, entre otros. Adicionalmente, al aprovechar la simbiosis entre ambos cultivos, se disminuye el costo ambiental que genera cada uno por separado, así como la necesidad de tratamiento de los efluentes (Adler *et al.*, 2000; Diver, 2006; Nelson, 2008; Stevenson *et al.*, 2010; Mariscal-Lagarda *et al.*, 2012; Love *et al.*, 2015; Mello *et al.*, 2017).

Bajo este contexto, se planteó el siguiente proyecto, el cual pretende desarrollar un sistema que integra el cultivo de camarón y albahaca en aguas de baja salinidad para evaluar la factibilidad del sistema propuesto y el beneficio que representa la integración de albahaca en términos de producción, eficiencia de asimilación y carga ambiental de fósforo en comparación con el monocultivo tradicional.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La baja asimilación de P en los cultivos acuícolas genera preocupación debido a su potencial de contaminación (el P generalmente es el nutriente limitante, por lo que su acumulación en el estanque o descarga a los cuerpos de agua receptores puede favorecer el desarrollo de cianobacterias, el aumento de la biomasa de algas y conducir a la eutrofización). En contraparte, el crecimiento poblacional ocasiona la necesidad de aumentar la producción de alimentos, para lo cual el fósforo representa un nutriente crítico, por lo que la posibilidad de que la disponibilidad de minerales de fósforo disminuyan en los próximos años ha representado una amenaza para la seguridad alimentaria (Páez-Osuna, 2001b; Balbi *et al.*, 2005; Cordell *et al.*, 2009; Schröder *et al.*, 2011; Chowdhury *et al.*, 2013).

La acuaponía, mediante conceptos de recirculación de agua y reciclaje de nutrientes, representa una alternativa para aumentar la eficiencia en la utilización del fósforo, y a su vez, contribuir a mejorar la longevidad y disponibilidad del mismo. Sin embargo, el éxito de un sistema acuapónico se basa en encontrar un equilibrio entre la concentración de nutriente que genera el cultivo acuícola y la que absorbe el cultivo hidropónico, ya que la deficiencia de fósforo causa retraso en el crecimiento de la planta, mientras que el exceso puede provocar interacciones antagónicas con algunos micronutrientes, afectando la producción y asimilación de nutrientes (Barben *et al.*, 2010).

Para lograr dicho equilibrio es imprescindible estimar la asimilación de P por cada uno de los cultivos del sistema, lo que permitirá aumentar la eficiencia en la utilización del nutriente y reducir su carga ambiental, resultando más sustentable. Por ende, en este estudio se realizó un balance de masas, que permite identificar como se distribuye el nutriente en el sistema, cuanto se asimila y cuanto se pierde al ambiente.

HIPÓTESIS

El cultivo de camarón en las aguas de baja salinidad seleccionadas (pozo y mar diluida a 2700 $\mu\text{s/cm}$) es factible y sus efluentes contienen las concentraciones P suficientes para la producción adicional de albahaca. Esta integración (camarón-albahaca) aumenta el porcentaje de fósforo asimilado y disminuye la carga ambiental en el sistema, resultando más eficiente que el monocultivo de camarón.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la factibilidad del sistema propuesto y el beneficio que representa la integración de la albahaca en términos de producción, asimilación y carga ambiental de fósforo en comparación con el monocultivo tradicional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la factibilidad del sistema propuesto (en los dos tipos de agua) considerando los resultados de producción tanto del cultivo de camarón como de hortalizas.
- Determinar las concentraciones de P en los tejidos de camarón (músculo, cefalotórax y exoesqueleto) y albahaca (tallo y hoja) para determinar la absorción de cada cultivo, y en el caso de la albahaca para determinar si se genera el nutriente suficiente o existe deficiencia.
- Desarrollar el balance de masas del P para identificar las principales fuentes de entrada del nutriente al sistema, así como determinar el porcentaje asimilado y la carga ambiental.
- Determinar la eficiencia del cultivo integrado respecto al monocultivo de camarón (producción, consumo de agua, asimilación y carga ambiental de fósforo).

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se realizó en el módulo experimental "YK", en Mazatlán, Sinaloa. El sistema consistió en dos tratamientos acuapónicos, el primero utilizó agua de pozo a 2,700 $\mu\text{S}/\text{cm}$, y el segundo, agua de mar diluida a la misma conductividad eléctrica (control para el cultivo de camarón). Cada uno estuvo conformado por una unidad acuícola (tanque para el cultivo de camarón de 2 m de diámetro y 1 m de tirante de agua), una unidad de acondicionamiento del agua (sedimentador y biofiltro), una unidad hidropónica (cama de block recubierta con plástico para el cultivo de albahaca de 3 m de largo, 1 m de ancho y 0.18 m de tirante de agua), cisterna, sistema de aireación y drenaje. El agua fluyó por gravedad desde los tanques hasta la cisterna, mientras que de la cisterna a los tanques se regresó con una bomba. El sistema hidropónico utilizado fue el DFT (Deep Flow Technique) o raíz flotante, se utilizaron 235 camarones por tanque (75 por m^2), 48 plantas de albahaca (16 por m^2) y se realizó por triplicado.

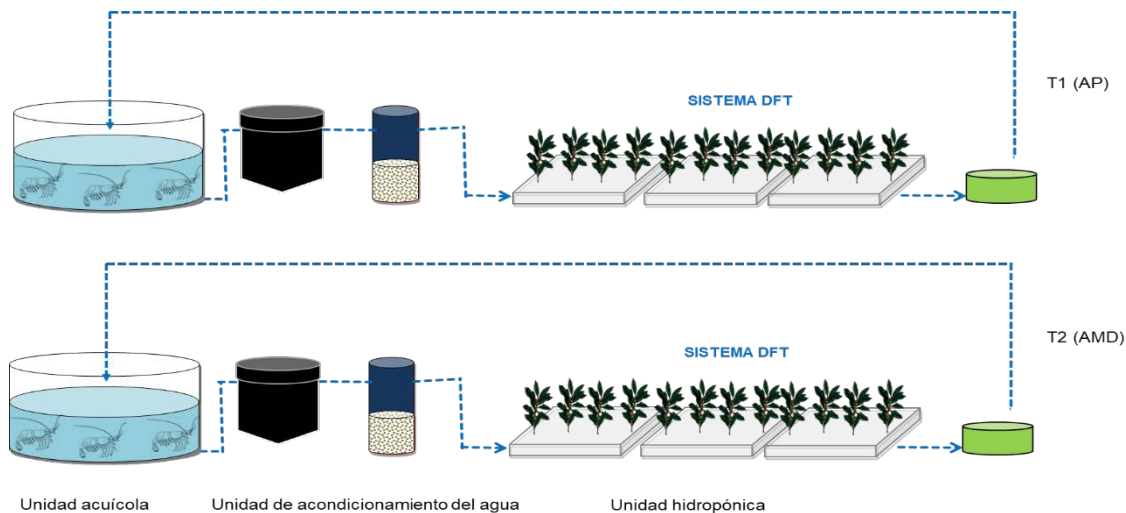


Figura 1. Diseño experimental del cultivo integrado camarón-albahaca. T1 (AP) = tratamiento con agua de pozo y T2 (AMD) = tratamiento con agua de mar diluida.

Durante el experimento se realizó un monitoreo constante de la calidad del agua (la temperatura, el oxígeno disuelto, la conductividad eléctrica y el pH fueron medidos *in situ* en los tanques de cultivo de camarón diariamente a las 6:00 y 18:00 horas, mientras que la SST, SSV, clorofila *a*, $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$, NT, $P-PO_4^{3-}$ y PT se midieron una vez a la semana en los tanques de cultivo de camarón, a la salida del biofiltro y a la salida del sistema hidropónico). Semanalmente se realizó un monitoreo del crecimiento del camarón para ajustar la alimentación y al finalizar el ciclo de cultivo se calculó el peso promedio (g), supervivencia (%), tasa de crecimiento semanal (g/sem), tasa de crecimiento específico (%/día), densidad final, factor de conversión alimenticia, y consumo de agua (m^3/kg). En la albahaca se evaluó la producción por planta (g), producción total (kg), relación hoja/tallo y contenido de cenizas en hoja y tallo (Samperio-Ruíz, 1999; Alatorre-Jacome *et al.*, 2012).

Se tomó muestra del alimento, fertilizante, zeolita inicial y final de cada, de la postlarva y las plántulas utilizadas; los lodos fueron cuantificados y se tomó una alícuota para su posterior análisis; así mismo, se recolectó muestra del camarón cosechado (cefalotórax, músculo y exoesqueleto) y la albahaca (hoja y tallo). Todas las muestras recolectadas fueron congeladas y posteriormente se liofilizaron y molieron para su análisis. Se determinó el porcentaje de humedad, materia seca, cenizas y contenido de fósforo total en cada una de las muestras recolectadas. El fósforo se analizó por triplicado mediante la técnica de fósforo reactivo, previa calcinación y extracción ácida, según el procedimiento descrito por Aspila *et al.* (1976).

Los flujos asociados con las entradas y salidas de fósforo se determinaron de acuerdo a la metodología y las consideraciones establecidas en Páez-Osuna y Ruíz-Fernández (2005) y Mariscal-Lagarda y Páez-osuna (2014). Para ello se llevó un registro de la cantidad y contenido de fósforo en alimento, fertilizante, zeolita, agua de llenado y reposición, postlarvas y plantas sembradas, camarones y hortalizas cosechadas, así como de lodos drenados. Una vez cuantificados los flujos se calcularon las pérdidas de éstos hacia el ambiente, mediante la siguiente ecuación:

$$L_P = FCF_P + fCf_P + ICI_P + BCB_P - HCH_P$$

Donde L se refiere a la carga ambiental, P al fósforo, F, f, I, B y H a la cantidad de alimento, fertilizante, agua, biomasa inicial y biomasa cosechada, respectivamente, y CF_P , Cf_P , CI_P , CB_P y CH_P a la concentración de P en el alimento, fertilizante, agua utilizada, biomasa inicial y biomasa de la cosecha, respectivamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos fueron analizados para determinar si eran normales y homoscedásticos. En caso de cumplir con estos supuestos se utilizó la prueba t-Student de lo contrario la prueba U Mann-Whitney. El intervalo de confianza utilizado fue del 95 % ($p < 0.05$) (Zar, 1984; Wong, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

La obtención de biomasa cosechada (kg) en el sistema fue: 2.0 ± 0.1 y 1.7 ± 0.1 para camarón y de 10.1 ± 1.8 y 6.2 ± 1.5 para albahaca en agua de pozo y mar diluida, respectivamente. Esto implica que la integración de la albahaca aumenta la producción aproximadamente entre 4 y 5 veces en comparación con el monocultivo de camarón. El tratamiento AP fue significativamente mejor ($P < 0.05$) que AMD (**Tabla 1 y 2**). El FCA, la supervivencia y la tasa de crecimiento semanal encontrada en este estudio son similares a lo reportado en otros estudios (FCA entre 1.4 y 2.7; supervivencias entre 50 y 90 %; tasas de crecimiento semanal entre 0.4 y 1.4 g) (Mariscal-Lagarda y Páez-Osuna, 2014).

Las concentraciones de fósforo (mg/g) en los tejidos fueron: 5.0 ± 0.4 y 5.2 ± 0.4 en músculo, 9.4 ± 0.3 y 9.9 ± 0.5 en exoesqueleto y 11.1 ± 0.3 y 10.7 ± 1.3 en cefalotórax para agua de pozo y mar diluida, respectivamente; 3.2 ± 1.0 y 3.3 ± 1.0 en hoja y 3.6 ± 1.1 y 3.9 ± 1.2 en tallo para agua de pozo y mar diluida, respectivamente. Las concentraciones de fósforo encontradas en los tejidos de la albahaca se encuentran por encima de los 2.0 mg/g (equivalente al 0.2 % del peso seco) establecidos por Jones *et al.* (1991) para considerar que no hay deficiencia de dicho nutriente en la planta, estos resultados sugieren que el sistema generó el fósforo suficiente para evitar deficiencias de este nutriente en el cultivo de albahaca. No existieron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos.

El balance de masas indica que el total de fósforo suministrado al sistema fue de 24.6 ± 0.2 y 21.8 ± 0.2 g, de los cuales 3.9 ± 0.2 y 3.6 ± 0.2 fueron recuperados como biomasa de camarón y 4.0 ± 0.4 y 2.8 ± 0.4 como biomasa de albahaca para agua de pozo y mar diluida, respectivamente (**Fig.2**). Esto implica que la eficiencia en la utilización del nutriente aumenta entre 80 y 100 % aproximadamente. El alimento es la principal entrada de P al sistema al contribuir con un 96 % aproximadamente para los dos tratamientos. La asimilación como biomasa de camarón obtenida en este estudio (entre 16 y 17 % aprox.) se encuentra dentro del intervalo registrado en otros estudios de monocultivos tradicionales (6.1 a 30%) y cultivos

acuapónicos (8.9 a 14.8%). Sin embargo, la recuperación de fósforo como biomasa de hortaliza (entre 13 y 16 % aprox.) es mayor a la obtenida en otros estudios de cultivos acuapónicos (4.3 a 9.6%).

La carga ambiental de fósforo por kg de camarón cosechado fue de 10.6 ± 0.8 y 10.4 ± 0.8 g para AP y AMD, respectivamente, la cual es menor a la encontrada en otros estudios de monocultivos de camarón (12-23 g P/kg camarón cosechado) y similar a la reportada en cultivos acuapónicos (9.2-14.6 g P/kg camarón cosechado), mientras que la carga de P por kg de biomasa total (camarón más hortalizas) fue de 1.5 ± 0.4 y 2.0 ± 0.4 g para AP y AMD, respectivamente, siendo menor a lo obtenido en otros estudios de cultivos acuapónicos (1.7-7.1 g P/kg biomasa total) (Páez-Osuna, 2001b; Saldías *et al.*, 2002; Thakur y Lin, 2003; Alarcón-Silvas, 2013; Mariscal-Lagarda y Páez-Osuna, 2014). La carga ambiental neta generada por el sistema al considerar solamente la producción obtenida en el cultivo de camarón fue de 20.7 ± 0.3 y 18.2 ± 0.3 g, mientras que al considerar la producción total obtenida es de 16.8 ± 0.3 y 15.4 ± 0.3 g para AP y AMD, respectivamente, lo que representa una reducción de la carga ambiental entre un 15 y 19 % aproximadamente (**Tabla 3**).

Comparación monocultivo respecto cultivo acuapónico: el sistema acuapónico resulta significativamente mejor ($P < 0.05$) que el monocultivo al aumentar la producción y la asimilación de P y disminuir el consumo de agua y la carga ambiental de P (**Tabla 4**).

Tabla 1. Variables de producción de *P. vannamei* en el cultivo acuapónico camarón-albahaca.

	AP	AMD
Duración de ciclo (días)	48	48
Densidad (camarones/m ²)	75	75
Peso inicial (g)	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.1
Peso final (g)	9.2 ± 0.3^a	8.7 ± 0.5^a
Crecimiento (g semana)	1.2 ± 0.1^a	1.2 ± 0.1^a
TCE (%/día)	5.4 ± 0.1^a	5.3 ± 0.1^a
Supervivencia (%)	89.6 ± 2.7^a	85.3 ± 5.1^a
FCA	1.4 ± 0.1^a	1.4 ± 0.1^a
Producción (kg)	1.96 ± 0.04^a	1.69 ± 0.09^b
Consumo de agua (m ³ /kg)	2.7 ± 0.1^a	3.0 ± 0.2^b

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Tabla 2. Variables de producción de *O. basilicum* en el cultivo acuapónico camarón albahaca.

Variable	AP	AMD
Producción total (kg)	10.1 ± 1.8^a	6.2 ± 1.5^a
Relación hoja/tallo	2.1 ± 0.4^a	2.5 ± 0.8^a
Ceniza en hoja (%)	14.0 ± 2.9^a	13.8 ± 1.3^a

Ceniza en tallo (%)

15.4 ± 4.2^a

16.3 ± 4.1^a

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas (P<0.05)

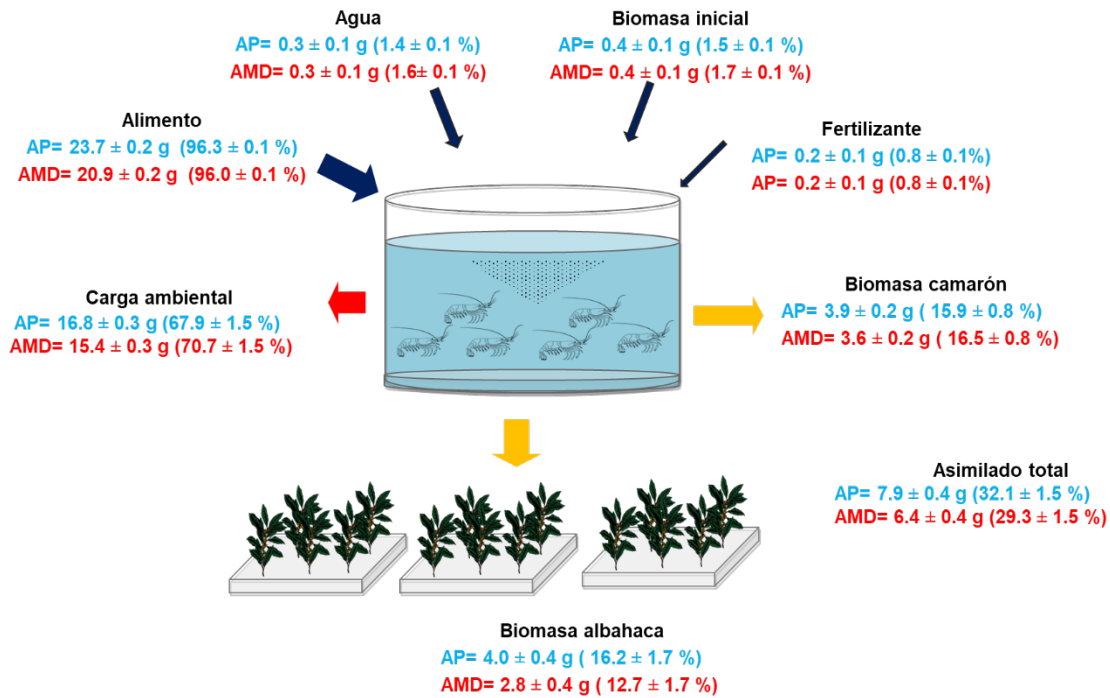


Figura 2. Balance promedio de fósforo (g) en el cultivo camarón-hortalizas

Tabla 3. Carga ambiental de fósforo en el sistema.

Tratamiento	Carga ambiental (g/kg)		Carga ambiental del sistema (g)		
	Monocultivo	Acuaponia	Monocultivo	Acuaponia	Reducción(%)
AP	10.6 ± 0.8	1.5 ± 0.4	20.7 ± 0.3	16.8 ± 0.3	19.3 ± 2.0
AMD	10.4 ± 0.8	2.0 ± 0.4	16.8 ± 0.3	15.4 ± 0.3	15.2 ± 2.0

Tabla 4. Comparación entre monocultivo de camarón y cultivo acuapónico camarón-albahaca.

Variable	AP			AMD		
	Monocultivo	Acuaponia	% cambio	Monocultivo	Acuaponia	% cambio
Producción (kg)	2.0 ± 0.1 ^a	12.1 ± 1.8 ^b	520 ± 203	1.7 ± 0.1 ^a	7.9 ± 1.4 ^b	359 ± 108
Consumo de agua (m ³ /kg)	2.7 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.1 ^b	80 ± 6	3.0 ± 0.2 ^a	0.8 ± 0.2 ^b	74 ± 7
Asimilación de P (%)	3.9 ± 0.2 ^a	7.9 ± 0.4 ^b	101 ± 13	3.6 ± 0.2 ^a	6.4 ± 0.4 ^b	77 ± 13
Carga ambiental de P (g)	20.7 ± 0.3 ^a	16.8 ± 0.3 ^b	19 ± 2	18.2 ± 0.3 ^a	15.4 ± 0.3 ^b	15 ± 2

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas (P<0.05)

Los mejores resultados obtenidos en este estudio en cuanto a producción, asimilación y carga ambiental de fósforo con respecto a otros estudios se deben quizá a que existe una mejor proporción camarón-planta, lo cual resulta indispensable para el correcto funcionamiento del sistema.

CONCLUSIÓN

El cultivo de camarón en las aguas seleccionadas es factible y genera el fósforo suficiente para la producción adicional de albahaca, esto implica que un mayor porcentaje del fósforo sea asimilado, aumentando la eficiencia en la utilización del nutriente y disminuyendo su carga ambiental, lo que resulta en un sistema más sustentable.

LITERATURA CITADA

- Adler, P.R., Harper, J.K., Wade, E.W., Takeda, F., Summerfelt, S.T. (2000). Economic analysis of an aquaponic system for the integrated production of rainbow trout and plants. *International Journal of Recirculating Aquaculture* 1, 15–34.
- Alarcón-Silvas, S.G. (2013). Calidad del agua y balance de nutrientes (N y P) en el cultivo integrado de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), tomate (*Lycopersicon esculentum*) y lechuga (*Lactuca sativa*) utilizando agua de baja salinidad y cero recambio. Tesis de Maestría en Ciencias. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, 121 p.
- Alatorre-Jacome, O., Trejo-García, F., Soto-Zarazua, G.M., Rico-García, E. (2012). Techniques to assess fish productivity in aquaculture farms and small fisheries: An overview of algebraic methods. *Journal of Applied Sciences* 12, 888-892.
- Balbi, F., Rosas, J., Velásquez, A., Cabrera, T., Maneiro, C. (2005). Aclimatación a baja salinidad de camarón marino *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) provenientes de criaderos comerciales. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 40, 109-115.
- Barben, S.A., Hopkins, B.G., Jolley, V.D., Webb, B.L., Nichols, B.A. (2010). Optimizing phosphorus and zinc concentrations in hydroponic chelator-buffered nutrient solution for Russet Burbank potato. *Journal Plant Nutrition* 33, 557–570.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S. (2014). *Handbook for Aquaculture Water Quality*. Craftmaster Printers, Auburn, Alabama.

- Chowdhury, M.A.K., Siddiqui, S., Hua, K., Bureau, D.P. (2013). Bioenergetics-based factorial model to determine feed requirement and waste output of tilapia produced under commercial conditions. *Aquaculture* 410–411:138–147
- Cordell, D., Drangert, J.O., White, S. (2009). The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Glob. Environ. Chang.* 19:292–305.
- Diver, S. (2006). *Aquaponics – Integration of Hydroponics with Aquaculture*. ATTRA – National Sustainable Agriculture Information Service. North Carolina: 1-28.
- FAO, (2018). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Estadísticas sobre la producción acuícola mundial. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/query/en> (accesado en marzo de 2019).
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K.V., Jijakli, H., Thorarinsdottir, R. (2015). Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustainability* 7, 4199–4224.
- Hu, Z., Lee, J.W., Chandran, K., Kim, S., Brotto, A.C., Khanal, S.K. (2015). Effect of plant species on nitrogen recovery in aquaponics. *Bioresource Technology*, 1–7
- Jones, J.B., Wolf, B., Mills, H.A. (1991). *Plant Analysis Handbook*. Micro-macro Publishing. Athens, G.A. 354 p.
- Junge, R., König, B., Villarroel, M., Komives, T., Haïssam, J. (2017). Strategic points in aquaponics. *Water* 9, 182-186.
- Love, D.C., Fry, J.P., Li, X., Hill, E.S., Genello, L., Semmens, K., Thompson, R.E. (2015). Commercial aquaponics production and profitability: findings from an international survey. *Aquaculture* 435, 67–74.
- Mariscal-Lagarda, M.M., Páez-Osuna, F., Esquer-Méndez, J.L., Guerrero-Monroy, I., Romo del Vivar, A., Félix-Gastelum, R. (2012). Integrated culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) with low salinity groundwater: management and production. *Aquaculture* 366, 76-84.
- Mariscal-Lagarda, M.M., Páez-Osuna, F. (2014). Mass balances of nitrogen and phosphorus in an integrated culture of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) with low salinity groundwater: a short communication. *Aquac. Eng.* 58, 107–112.
- Martínez-Córdova, L.R., Martínez-Porchas, M., Cortés-Jacinto, E. (2009). Camaronicultura Mexicana y mundial: ¿Actividad sustentable o industria contaminante? *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25, 181-196.
- Martínez-Córdova, L.R., López-Elías, J.A., Martínez-Porchas, M., Bernal-Jaspeado, T. y Miranda-Baeza, A. (2011). Studies on the bioremediation capacity of the adult black clam, *Chione fluctifraga*, of shrimp culture effluents. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 46, 105-113.
- Mello, S., Molinari, D., Lemos, G., Fitzsimmons, K.M., Coelho, G. (2017). Effluent from a biofloc technology (BFT) tilapia culture on the aquaponics production of different lettuce varieties. *Ecological Engineering*, 146–153.
- Moya, E.A.E., Sahagún, C.A.A., Carrillo, J.M.M., Alpuche, P.J.A., Álvarez-González, C.A., Martínez-Yáñez, R. (2014). Herbaceous plants as part of biological filter for aquaponics system. *Aquaculture Research*, 1–11.

- Nelson, R.L. (2008). Aquaponics food production. Raising fish and profit. Nelson and Pade, Inc. First Edition. Virgen Islands.
- Páez-Osuna, F. (2001a). The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. *Environmental Management* 28, 131-140.
- Páez-Osuna, F. (2001b). *Camaronicultura y Medio Ambiente*, (Editor). UNAM y El Colegio de Sinaloa, México. 448 p.
- Rakocy, J. (2007). Ten guidelines for aquaponics systems. *Aquaponics Journal*. 46: 14-17.
- Rakocy, J.E., 2012. Aquaponics—integrating fish and plant culture. In: Tidwell, J.H. (Ed.), *Aquaculture Production Systems*. , 1st ed. Wiley-Blackwell, Oxford, 343–386 p.
- Roosta, H.R., Hamidpour M. (2011). Effects of foliar application of some macro- and micro-nutrients on tomato plants in aquaponic and hydroponic systems. *Scientia Horticulturae*, 129, 396-402.
- Saldías, C., Sonnenholzner, S., Massault, L. (2002). Balance de nitrógeno y fósforo en estanques de producción de camarón en Ecuador. *El mundo acuícola*. Distribuciones del CENAIM durante el VI Congreso Ecuatoriano de Acuicultura.
- Samperio-Ruíz, G. (1999), *Hidroponia básica*, ed. DIANA, México, D.F., 153 p.
- Schröder, J.J., Smit, A.L., Cordell, D., Rosemarin, A. (2011). Improved phosphorus use efficiency in agriculture: a key requirement for its sustainable use. *Chemosphere* 84, 822–831.
- Stevenson, K.T., Fitzsimmons, K.M., Clay, P.A., Alessa, L., Kliskey, A. (2010). Integration of aquaculture and arid lands agriculture for water reuse.
- Yildiz, H.Y., Robaina, L., Pirhonen, J., Mente, E., Domínguez, D., Parisi, G. (2017). Fish welfare in aquaponic systems: Its relation to water quality with an emphasis on feed and faeces—A Review. *Water* 9, 13.

CICLO REPRODUCTIVO DE LA ALMEJA PATA DE MULA *Larkina grandis*, EN EL ESTERO EL COHUI, GUASAVE, SINALOA

Maria Isabel Sotelo-Gonzalez ¹, Rebeca Sanchez Cardenas², Manuel García-Ulloa³, Andrés Martín Góngora-Gómez³, Luis Antonio Salcido Guevara², Juan Francisco Arzola Gonzalez², Carlos Humberto Sepúlveda¹

¹ Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Región Sur. mariaisabel_facimar@uas.edu.mx.

² Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

³ Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Sinaloa.

RESUMEN

Algunos moluscos bivalvos presentan un ciclo reproductivo anual, el cual, incluye un período de gametogénesis seguido por eventos de desove y un posterior período de restitución gonadal. Este último incluye etapas de reposo de la actividad reproductiva, períodos vegetativos de diferenciación celular, de crecimiento citoplasmático, de puesta, de reabsorción de los restos de gametos que no se han liberado en la puesta y de maduración. *Larkinia grandis* es explotada en el litoral del Pacífico mexicano y representa una especie de bivalvo de importancia comercial para las comunidades costeras. La pesca comercial de *L. grandis* se realiza sin regulaciones pesqueras específicas y la información sobre sus poblaciones es insuficiente para impulsar iniciativas para su manejo sustentable. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue conocer el ciclo reproductivo de *L. grandis*, en el estero El Cohui, Guasave, Sinaloa. Se realizó un muestreo mensual de 20-30 especímenes de *L. grandis* durante un año, a los cuales, se les realizó un diagnóstico histológico de las fases de desarrollo gonadal (FDG) y un análisis mensual de las mismas. Se diagnosticaron cinco FDG para machos y hembras: Indiferenciado, desarrollo, madurez, desove y post-desove. Se definieron dos ciclos reproductivos de *L. grandis* en el estero El Cohui, uno que ocurrió de octubre a diciembre (2017) y otro de abril a julio (2018).

Palabras clave: Arcidae, molusco, desarrollo gonadal, gametogénesis, desove.

INTRODUCCIÓN

Los moluscos bivalvos pertenecientes a la familia Arcidae son llamadas comúnmente “almeja negra” y/o “pata de mula” en el Golfo de California. Existen aproximadamente 200 especies que habitan en zonas templadas y someras; cinco de ellas son comunes a lo largo del Océano Pacífico: *Anadara mazatlanica* (Hertlein y Strong, 1943), *A. multcostata* (Sowerby, 1833), *A. similis* (Adams, 1852), *A. tuberculosa* (Sowerby, 1833) y *Larkinia grandis* (Broderip y Sowerby,

1829). La almeja “pata de mula” es explotada en el litoral del Pacífico y cumple con grandes posibilidades económicas para el desarrollo pesquero. En particular, *L. grandis* se ha explotado durante “cientos de años”, formando parte de la dieta de los grupos humanos costeros de México desde tiempos prehispánicos (Keen, 1971). *L. grandis* se encuentra cerca de la línea de costa, habita en estrecha relación con las raíces del mangle *Rhizophora* spp., enterradas en el sedimento fangoso, y muy rara vez, semienterradas o expuestas (Keen, 1971; Cano-Otalvaro, 2011). Se alimenta por filtración del agua de mar ingerida por su sifón inhalante, el cual se extiende fuera de la concha para captar alimento en suspensión, como fitoplancton y materia orgánica en partículas (Díaz-Báez *et al.*, 2004).

En general, los moluscos bivalvos presentan un ciclo reproductivo anual, el cual, incluye un período de gametogénesis seguido por eventos de desove que se presentan una sola vez de manera extendida o varias veces durante el ciclo, seguido por un período de restitución gonadal (Chávez-Villalba *et al.*, 2008). Este último incluye etapas de reposo de la actividad reproductiva, períodos vegetativos de diferenciación celular, de crecimiento citoplasmático, de puesta (liberación de los gametos al medio ambiente), de reabsorción de los restos de gametos que no se han liberado en la puesta y de maduración (Gosling, 2003). El ciclo reproductivo de los moluscos bivalvos se rige por factores exógenos (temperatura, alimento, fotoperiodo) y endógenos (neurosecreciones o compuestos endocrinos y genéticos), siendo la temperatura y el alimento, los parámetros más importantes por su acción sinérgica en el control de la reproducción (Chávez-Villalba *et al.*, 2008). La cantidad y disponibilidad de alimento también influye de manera importante en la calidad de los gametos así como en los patrones de maduración y desove.

Los pocos estudios que abordan el tema de la reproducción en almejas de la familia Arcidae para las costas mexicanas, revelan que se reproducen de manera continua durante un ciclo anual, tanto de manera silvestre como en cultivo (Pérez-Medina, 2005; García-Domínguez *et al.*, 2008). Cruz (1984) y Vega (1994) reportaron observaciones muy similares para poblaciones de Costa Rica, destacando algunos datos específicos como una proporción sexual de 1:1 y una talla de primera madurez de 23.2 y 26 mm para hembras y machos, respectivamente. Baqueiro *et al.* (1982) establecieron que la talla de primera madurez para hembras y machos fue de 38 y 28 mm, respectivamente, en el banco de almejas de Bahía La Paz, B. C. S.

Específicamente, los estudios que relacionan la biología básica y/o aspectos fisiológicos de *L. grandis* han sido poco abordados, por lo que la investigación en este rubro proveería estimaciones más apegadas a los ciclo vitales de esta almeja, además de fortalecer su aporte científico. También, se proporcionarían herramientas más completas y confiables para determinar la viabilidad de una población. Bajo tales argumentos, la información generada será utilizada para determinar medidas de control sustentables para la explotación controlada de esta almeja en Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La almeja “pata de mula” *L. grandis* es un recurso pesquero de gran importancia comercial en el noroeste de México, sin embargo, para el estado de Sinaloa, no existen estudios acerca de este bivalvo, de hecho, esta especie no se encuentra registrada en la Carta Estatal de Información Pesquera y Acuícola para las costas de dicho estado. *L. grandis* es explotada por los pescadores ribereños con fines alimenticios y para realizar artesanías. Por su fácil extracción y alta demanda en el mercado, este recurso es susceptible a la sobreexplotación, por lo que se requiere generar información acerca de su ciclo gametogénico para establecer normas de captura y manejo sustentable para las poblaciones naturales como la que se encuentra en el estero El Cohui, ubicado en el Municipio de Guasave, Sinaloa. Conocer su fisiología reproductiva con la descripción de las fases que componen su ciclo gametogénico, representa una invaluable herramienta básica en el establecimiento de periodos de vedas y tamaño de captura, para generar propuestas y estrategias de manejo pesquero y para aplicar el aprovechamiento sustentable de este recurso.

HIPÓTESIS

La almeja pata de mula *Larkinia grandis* presenta reproducción continua todo el año, sin pasar por una fase de inactividad reproductiva.

OBJETIVO GENERAL

Conocer el ciclo gametogénico y la época reproductiva de una población silvestre de la almeja “pata de mula” *L. grandis*, (Broderip y Sowerby, 1829) en el estero El Cohui, Guasave, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Describir el desarrollo gonádico
- 2) Conocer la época reproductiva

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La recolecta de los organismos se realizó en el estero El Cohui con base en la existencia de zonas tradicionales de pesca (bancos) de la especie. El estero El Cohui, perteneciente al municipio de Guasave, está localizado en la porción norte del estado de Sinaloa, entre los 25°26' y 19.38' de latitud N, y los 108°48' y 43.9' longitud W (Góngora-Gómez *et al.*, 2017). El estero El Cohui pertenece al Sistema Lagunar San Ignacio-Navachiste-Macapule. Este sistema lagunar está catalogado como Área Natural Protegida de las Islas del Golfo de California y

desde el año 2008, fue registrado como sitio RAMSAR. Tiene una superficie total de 22,700 ha repartidas como sigue: San Ignacio 4,900 ha, Navachiste 14,000 ha y Macapule 3,800 ha; presenta una profundidad promedio de 4 m. Tiene 4 entradas de agua marina: la Boca de Ajoro que comunica la Bahía de San Ignacio y la parte norte de Navachiste con el mar, con una extensión de 2 km; la boca de Basiquilla que une la Bahía de Navachiste con el mar, de aproximadamente 1.5 km; la boca de Macapule que une el norte de la Bahía de Macapule con el mar; y la Bocanita, que comunica al mar con la parte sur de la Bahía de Macapule a través del estero denominado El Esterón. El clima en esta región es de tipo semi seco muy cálido BS (h´) y muy seco y cálido BW (h´) con lluvias en verano (agosto-octubre) (Escobedo-Urías et al., 2003; Valenzuela-Hernández, 2013).

Recolecta de los organismos

Se realizaron muestreos de agosto de 2017 a julio de 2008 durante un año para recolectar de 20-30 especímenes de *L. grandis* por mes (Álvarez-Dagnino et al., 2017).

Análisis histológico

El análisis histológico de las gónadas se llevó a cabo cada mes mediante la tinción de Hematoxilina-Eosina-Floxina (Humason, 1972). Antes de sacrificar a los organismos (n = 20), fueron revisados para observar la presencia de alteraciones externas, así como de su estado gonadal (Góngora-Gómez et al., 2014). Para realizar la fijación del tejido, las gónadas fueron inyectadas con solución Davidson, después, se depositaron en frascos de plástico de 1 L y se mantuvieron en esta solución de 24 a 72 h de acuerdo al tamaño de las gónadas. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada para eliminar el exceso del fijador, y luego, se colocaron en alcohol al 70 % para su permanencia hasta la deshidratación (Góngora-Gómez et al., 2014). Las muestras conservadas en alcohol al 70 % fueron seccionadas de manera longitudinal para obtener fragmentos de tejido gonadal que se colocaron en casetes (Uni-Cassettes VWR CS 1500 TEK WHT 14221-384). A cada uno de los casetes se le asignó una clave (rotulación) para su identificación (Góngora-Gómez et al., 2014). Los cassettes fueron colocados en una canastilla de transporte y depositados en el deshidratador de tejidos. Las inmersiones de los tejidos se realizaron incrementando el grado de alcohol en los vasos, iniciando con alcohol etílico al 70, 80, 96 y 100% respectivamente; después, los tejidos se sumergieron en xilol para finalmente, ser embebidos en parafina líquida con el fin de lograr la infiltración de ésta a nivel celular. Se utilizaron dos vasos por reactivo para una mejor deshidratación.

Para realizar los procesos de deshidratación, aclaración y emparafinado, los casetes fueron acomodados en una canasta de transporte y depositados en el deshidratador de tejido (Termo Scientific™ Exselcior™ AS). Las inmersiones de los tejidos se realizaron incrementando el grado de isopropanol en los vasos (70, 80, 90, 96 y 100 % durante una hora, respectivamente). Después, se llevó a cabo la inmersión de tejidos en isopropanol-aceite mineral para ser

embebidos en parafina líquida a fin de lograr su infiltración a nivel celular (Buesa y Peshkov, 2009; Góngora-Gómez *et al.*, 2014).

Posterior a la deshidratación, los tejidos se retiraron de las canastillas y se colocaron en el centro de un molde de metal, para ser embebidos en parafina líquida a una temperatura de 64 °C con un histoembebedor (Thermo Scientific, Microm EC 350-1). Se colocaron los casetes sobre el molde para después ser depositados en una cama de hielo, y así, al enfriarse y solidificarse, formar un bloque (Góngora-Gómez *et al.*, 2014). Se realizaron cortes histológicos de 3 µm de espesor con un micrótopo semiautomático HM340 (Thermo Scientific). De cada bloque, se tomó el corte más completo, mismo que fue depositado en un baño de flotación a una temperatura de 32 a 35 °C (Technicare, 092194); posteriormente, cada portaobjeto con las muestras adheridas se colocaron en un horno de incubación para su secado y eliminación de parafina (Góngora-Gómez *et al.*, 2014). Las secciones montadas en los portaobjetos fueron teñidas con Hematoxilina-Eosina-Floxina. Finalmente, se adicionó resina a las láminas y se les colocó el cubreobjetos para su conservación permanente (Góngora-Gómez *et al.*, 2014).

Descripción del desarrollo gonádico

Las muestras procesadas por histología fueron analizadas cualitativamente utilizando un microscopio Thermo Scientific (M1000), con el objetivo de 10 X, para observar el tejido de la gónada. Se determinaron las etapas de maduración, así como su respuesta de abundancia y la predominancia de los ovocitos correspondientes a los diversos estadios de madurez gonadal, para finalmente, obtener el nivel de madurez gonádica del organismo con respecto a cada mes de muestreo (Baqueiro *et al.*, 1982; Pérez-Medina, 2005; García-Domínguez *et al.*, 2008; Manjarrés-Villamil *et al.*, 2013). Estos datos fueron documentados mediante una cámara Thermo Scientific (M1000). Una vez que se tomaron las fotografías, las imágenes fueron transferidas y procesadas en una computadora para su análisis final (Álvarez-Dagnino *et al.*, 2017).

Descripción de la época reproductiva

Para la descripción de la época reproductiva, cada una de las etapas fueron agrupadas mensualmente. Posteriormente, se estimó la frecuencia relativa por mes en cada una de las etapas y para su interpretación, se utilizaron gráficos de barras. Se observó la secuencia mensual de aparición de cada etapa para definir la época reproductiva. Los indicadores para definir la época de desove fueron la presencia de las etapas de madurez y desove de machos y hembras (Álvarez-Dagnino *et al.*, 2017; Cervantes-Rendón, 2018).

RESULTADOS

Se analizaron un total de 240 organismos de la almeja negra *L. grandis* recolectadas en el estero El Cohui, Guasave, Sinaloa. Macroscópicamente no hubo diferencias entre las gónadas de hembras y macho. A nivel microscópico se lograron identificar las células gametogénicas de machos y hembras en sus diferentes etapas.

Desarrollo gonádico

Las etapas gametogénicas observadas en los organismos de *L. grandis* mediante el análisis histológico de las gónadas mostraron 5 etapas de gametogénesis para ambos sexos, descrito por Baqueiro *et al.* (1982); Pérez-Medina (2005); García-Domínguez *et al.* (2008); Manjarrés-Villamil *et al.* (2013), las cuales son: Reposo, desarrollo, madurez, desove y post-desove. También se encontraron organismos hermafroditas.

Reposo y/o indiferenciado: Esta etapa se caracteriza por la ausencia de gametos, por lo tanto, no se puede definir el sexo. Se observa la presencia de acinos vacíos. El tejido conjuntivo es abundante ocupando todo el espacio del sistema digestivo.

En machos:

Desarrollo: Esta etapa se caracteriza por la presencia de una gran cantidad de células germinales, las espermatogonias y espermatocitos se encuentran adheridos en la pared interna de los folículos, en el lumen se observaron espermatozoides libres. Se observa una disminución del tejido conjuntivo y sistema digestivo.

Madurez: Los folículos y/o acinos se encuentran comprimidos, totalmente llenos de espermatozoides, a estos, se les aprecia su cola o flagelo orientados hacia el lumen del túbulo. Se observa una delgada capa de células espermatogénicas en la pared de los túbulos y el tejido conjuntivo presenta una gran disminución.

Desove: En esta etapa los folículos y/o acinos están parcialmente vacíos. Se puede observar variación de espermatozoides, en algunas zonas los espermatozoides estaban dispersos y en otras los folículos estaban totalmente vacíos.

Post-desove: Se puede apreciar dentro de los folículos una pequeña cantidad de espermatozoides residuales, los cuales, están siendo fagocitados por amebocitos. Se observa un aumento en la cantidad de tejido conjuntivo.

En hembras:

Desarrollo: Esta etapa se caracteriza por la presencia de folículos y/o acinos con una gran cantidad de ovocitos en crecimiento, adheridos a la pared folicular. Se observa disminución de tejido conjuntivo y sistema digestivo.

Madurez: Los folículos se encuentran llenos de ovocitos maduros, mismos que presentan núcleo y gránulos de vitelo. Los ovocitos están libres ocupando todo el espacio en el lumen de los folículos. Aún se pueden diferenciar ovocitos inmaduros pegados a la pared folicular. Se observa una gran disminución de tejido conjuntivo.

Desove: Se caracteriza por la presencia de folículos total y parcialmente vacíos. En algunos casos, aún se aprecian ovocitos adheridos a la pared folicular, lo que sugiere que la gónada tendría la capacidad de volver a madurar.

Post-desove: Dentro de los folículos se observa una pequeña cantidad de ovocitos maduros residuales, los cuales, están siendo fagocitados o en reabsorción. Aumenta la cantidad de tejido conjuntivo.

La almeja *L. grandis* presentó actividad reproductiva durante todo el ciclo. Se apreciaron dos picos de desove anuales, los cuales, fueron de octubre-diciembre 2017, sin embargo, la época más fuerte se presentó en los meses de abril-julio 2018.

CONCLUSIÓN

En el estero El Cohui la población de *Larkinia grandis* presenta dos ciclos reproductivos (octubre-diciembre y abril y julio).

LITERATURA CITADA

Álvarez-Dagnino, E., Santamaría-Miranda, A., García-Ulloa, M. y Góngora-Gómez, A.M. 2017. Reproduction of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) in the Southeast Gulf of California, Mexico. *Revista Biología Tropical*. 65 (3): 881–889.

Baqueiro, E., Muciño, M. y Merino, R. 1982. Análisis de una población de pata de mula *Anadara tuberculosa* sujeta a explotación intensiva en la bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Ciencia Pesquera*. 3: 75–82.

Buesa, R.J. y Peshkov, M.V. 2009. Histology without xylene. *Annals of Diagnostic Pathology*. 13: 246–256.

Cano-Otalvaro, J.L. 2011. Caracterización morfométrica de *Anadara tuberculosa* y *A. similis* en La Costa Pacífica Colombiana. Tesis de licenciatura. Universidad del Valle Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. 99 p.

Cervantes-Rendón, D. L. 2018. Aspectos reproductivos del quitón *Stenoplax magdalenensis* (Hinds, 1845) en La Bocanita, Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. 95 p

Chávez-Villalba, J., Ibarra-Hernández, A., López-Tapia, M. y Mazón-Suástegui, J. 2008. Prospective Culture of the Cortez Oyster *Crassostrea corteziensis* from Northwestern Mexico: Growth, Gametogenic Activity, and Condition Index. *Journal of Shellfish Research*. 27 (4): 711–720.

Cruz, R.A. 1984. Algunos aspectos de la reproducción en *Anadara tuberculosa* (Pelecypoda: Arcidae) de Punta Arenas, Puntarenas, Costa Rica. *Revista Biología Tropical*. 32 (1): 45–50.

Díaz-Báez, M.C., Pica-Granados, Y. y Ronco, A. 2004. Ensayo de toxicidad aguda con *Daphnia magna*. En: G. Castillo (ed.). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IDRC-IMTA, México. 52–63.

Escobedo-Urías, D., Jiménez, A.I., Martínez, A.L., Hernández, M.T.R., Reyes, A.S., Herrera, N.M., Ulloa, E.P., Álvarez, P.R. Zavala, A.N. y Chiquete, O. 2003. Dinámica Oceanográfica de la Laguna de Navachiste, Sinaloa. Resúmenes del IX Congreso de la Asociación de Investigadores del Mar de Cortés.

García-Domínguez, F.A., De Haro-Hernández, A., García-Cuellar, A., Villalejo-Fuerte, M. y Rodríguez-Astudillo, S. 2008. Ciclo reproductivo de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) (Arcidae) en Bahía Magdalena, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 43 (1): 143–152.

Góngora-Gómez, A.M., Abad-Rosales, S.M., García-Ulloa, M. y Domínguez-Orozco, A.L. 2014. Manual de técnicas histológicas aplicado a moluscos marinos bivalvos con énfasis en el callo de hacha *Atrina maura*. Groppe Libros, Guadalajara, Jalisco, México. 41 p.

Góngora-Gómez, A.M., García-Ulloa, M., Villanueva-Fonseca, B.P., Domínguez-Orozco, A.N., Hernández-Sepúlveda, J.A. 2017. Concentraciones de cobre y zinc en el ostión *Crassostrea gigas* cultivado en dos lagunas costeras del norte de Sinaloa, México. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 21 (3): 19–29.

Gosling, E. 2003. Bivalve Mollusks: Biology, Ecology and Culture, Blackwell Science. United Kingdom. 439 p.

Humason, G.L. 1972. Animal tissue techniques. W. H. Freeman and Cia. San Francisco, USA. 572 p.

Keen, A.M. 1971. Sea Shells of Tropical West America. Marine Mollusks from Baja California to Peru. Stanford University Press. California. 1064 p.

Manjarrés-Villamil, A.L., Lucero-Rincón, C.H., Gualteros, W.O, Cantera-Kintz, J.R., y Gil-Agudelo, D.L. 2013. Abundancia y madurez sexual de *Anadara similis* en el maglar de Luisico, Bahía Málaga, Pacífico Colombiano. Revista Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras. 42 (2): 215-231.

Pérez-Medina, B.P. 2005. Biología reproductiva de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) en el estero Santo Domingo, B. C. S., México. Tesis de Maestría, con Especialidad en Manejo de Recursos Marinos. IPN-CICIMAR. 89 p.

Valenzuela-Hernández, T.N. 2013. Efecto de los factores ambientales sobre el crecimiento y supervivencia de ostiones triploides y diploides de *Crassostrea gigas* en el estero La Piedra, Guasave, Sinaloa. Tesis de Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente. IPN-CIIDIR, Unidad Sinaloa. 76 p.

Vega, A.J. 1994. Ciclo reproductivo de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) en la Reserva Forestal Térraba-Sierpe, Puntarenas, Costa Rica. Tesis Magistral. Universidad de Costa Rica, Sistema de Estudios de Posgrado en Biología, San Jose Costa Rica. 100 p.

INFLUENCIA DEL TIPO DE SOMBRA SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE BOVINOS EN FINALIZACIÓN EN ALTAS TEMPERATURAS CLIMÁTICAS

Ilse Anahi Medina Armenta ¹, Beatriz Isabel Castro Pérez², Francisco Gerardo Ríos Rincón², Alejandro Plascencia Jorquera³, Alfredo Estrada Angulo², Carlos Raúl Rivera Méndez⁴

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UAS; annahimedina@hotmail.com, ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UAS, ³Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias – UABC, ⁴Centro de Investigación INNOVA – SuKarne

RESUMEN

Actualmente es un reto poder obtener el potencial máximo de producción por animal debido a las condiciones climáticas. Incrementar la superficie de sombra en corrales de engorda intensiva mejora la respuesta productiva de bovinos. Para el experimento se recibieron 1560 toros en la engorda que fueron pesados a su llegada para hacer bloqueo, los grupos de bovinos se asignó aleatoriamente a los tratamientos: sombra convencional, sombra doble, domo sin abanico y domo con abanico. Se calculó GDP, eficiencia alimenticia, CMS, EN observada y EN observada sobre esperada. El experimento se analizó como diseño de bloques completos al azar, usando el corral como unidad experimental, para efectos de los tratamientos se utilizaron contrastes ortogonales considerando una P de ≤ 0.05 para aceptar diferencias. Al aumentar la superficie de sombra por animal, la GDP tiende a incrementar (lineal, $P = 0.08$), sin embargo, no hubo aumento de la eficiencia alimenticia ni energía neta de la dieta. El ganado alojado en sombra doble muestra mayor CMS que los otros tratamientos (efecto cuadrático, $P = <0.01$). La EN de la dieta, EN esperado sobre observado, tendió a ser menor (efecto cuadrático, $P = 0.08$) en la sombra doble. El domo con abanico aumento la GDP (6%, $P = 0.03$), pero no la eficiencia alimenticia. Se concluye que la proporción en el espacio de sombra afecta la ganancia diaria pero no la eficiencia alimenticia o energía de la dieta. El uso de tecnología como los ventiladores mejoran la GDP y el peso final.

Palabras claves: Sombra, Estrés calórico, Ganancia diaria de peso, Consumo de materia seca, Eficiencia alimenticia.

ABSTRACT

Currently there is a challenge to produce the maximum amount of meat with the least amount of resources. Climatic conditions have been a consistent handicap in order to obtain standardized productivity. For this experiment, 1,560 bulls were received and processed according to current procedures of the feedlot in which this experiment was carried on. Animals were weighed and allocated randomly in different blocks according to their bodyweight. Four different heat stress structures were evaluated: conventional shade, double shade, domes without fans and domes with fans. ADG, feed conversion DMI, observed and expected NE as well as their observed:expected ratio were calculated. Data was analyzed as a randomized block design using the pen as experimental unit and orthogonal contrast were used to find effects between treatments, considering a P of ≤ 0.05 to accept differences. By increasing the shade area per animal, the GDP tends to increase (linear, $P = 0.08$), however, there was no increase in the food

efficiency or net energy of the diet. Cattle housed in double shadow shows higher DMI than the other treatments (quadratic effect, $P = <0.01$). The dietary NE, expected -to-observed NE, tended to be smaller (quadratic effect, $P = 0.08$) in the double shadow. The dome with a fan increased the ADG (6%, $P = 0.03$), but not gain to feed. It is concluded that the proportion in the shadow space affects the average daily gain but not gain to feed or energy of the diet. The use of technology such as fans improves the GDP and the final weight.

Key words: Shadow, Caloric stress, Average daily gain, Dry matter intake, Gain to feed.

INTRODUCCIÓN

El consumo de alimentos de origen animal se ha incrementado en todo el mundo debido al crecimiento poblacional y se prevé que esta tendencia continúe en ascenso (FAO, 2014). Bajo esta perspectiva, el acelerado crecimiento de la población mundial, se estima que para el año 2050 alcance los 9.100 millones de habitantes, es decir 34 % más que en el año 2009; por tal razón, con el fin de alimentar a una población humana en constante crecimiento, la producción de alimentos deberá aumentar en un 70 %; ante este incremento el sector ganadero y la producción anual de carne deberán aumentar en más de 200 millones de toneladas hasta alcanzar los 470 millones de toneladas para satisfacer las necesidades alimenticias de los habitantes (FAO, 2009). Datos recientes indican que, en el año 2017, la producción mundial de carne bovina se incrementó en un 2% con un total aproximado de 62 millones de ton, siendo Estados Unidos, Brasil y Argentina los principales productores, mientras que México se posicionó en el séptimo lugar con 1.9 millones de ton (USDA, 2017). A nivel local, en los últimos diez años, en el estado de Sinaloa se ha incrementado en 2 % el número de cabezas de bovinos, con una población estimada de 1.5 millones (SIAP, 2016). Debido al incremento poblacional en los últimos años, los sistemas de producción de carne bovina se ha intensificado con el fin de abastecer la demanda de alimentos (Rubio *et al.*, 2013), ante esta creciente actividad se compromete el bienestar de los bovinos en los corrales de finalización (Rossner, Aguilar y Koscinczuk, 2010); al respecto, en los corrales de engorda intensiva, la combinación de los factores ambientales, alta temperatura ambiental y elevada humedad relativa, generan una situación de estrés en el ganado, modificando la fisiología y el comportamiento del bovino (Veissier y Boissy, 2007; Olivares *et al.*, 2013), de tal manera que el estrés calórico tiene un impacto negativo en el rendimiento y bienestar del ganado (Brown-Brandl *et al.*, 2005); cuando la temperatura ambiental se incrementa, los bovinos reducen el consumo de materia seca con el fin de disminuir la producción de calor, que conlleva la fermentación a nivel ruminal y la digestión, así como la actividad muscular en la búsqueda de alimento (Roca, 2011). Mitlöhner *et al.*, (2001), refieren que las condiciones ambientales adversas afectan negativamente la ganancia diaria de peso y en consecuencia se tiene menor peso vivo.

En 1989 la Organización Mundial de Meteorología (WMO por sus siglas en inglés) estableció cuatro categorías para identificar el riesgo de estrés calórico en bovinos mediante el Índice de Temperatura y Humedad (ITH): confort ($ITH \leq 70$), alerta ($ITH >70 \leq 79$), peligro ($ITH >79 \leq 84$) y emergencia ($ITH >84$). La implementación de sombra en regiones con ITH elevados es una estrategia de mitigación sobre los efectos del calor, protege al bovino de la radiación solar,

reduciendo la sensación térmica, al disminuir la temperatura del ambiente entre 1 a 3°C bajo la sombra (Silanikove, 2000; Schütz *et al.*, 2009). En un experimento realizado en Texas por Mitlöhner, Galyean y McGlone (2002) observaron que el uso de sombra en el corral de engorda en temporada de verano (2.12 m²/ animal) aumentó el consumo de materia seca (CMS) y la ganancia diaria de peso (GDP), así mismo, disminuyó la tasa respiratoria en comparación a los bovinos desprovistos de sombra. Por lo anterior el objetivo del presente experimento es revisar la influencia del tipo de sombra en el corral de engorda sobre la respuesta productiva de bovinos en finalización intensiva en altas temperaturas climáticas.

PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

El crecimiento poblacional a través de los años ha provocado una alta demanda de productos de origen animal, debido a esta situación, los sistemas de producción se han intensificado con el fin de cubrir las necesidades de la población comprometiendo el bienestar animal ya que en diversas unidades de producción se aumenta el número de animales dentro de las mismas instalaciones reduciendo el espacio vital del corral, comedero, bebedero y sombra; al disminuir estas necesidades básicas, provoca agresiones entre los mismos animales por defender su territorio.

Sinaloa es uno de los principales estados con mayor producción de carne bovina posicionándose en el quinto lugar en el país aportando el 5.1 % del total (101 mil ton; SIAP, 2017), sin embargo, es un reto poder obtener el máximo en ganancia por animal debido a las condiciones climáticas que posee el estado con temperatura máxima que sobrepasa los 40°C y alta humedad relativa máxima de 98 % con promedio anual de 68 % (CIAD, 2018), la combinación de estos factores suelen ser estresores que provocan en el bovino cambios fisiológicos que no son favorables para el productor ya que los animales disminuyen la ingesta de alimento provocando pérdida en la ganancia diaria de peso y a su vez reflejado en la composición de la canal. Esta situación es conocida como estrés calórico.

Existen estrategias para mitigar este estrés térmico entre las principales son la utilización de sombras (naturales-artificiales), ventiladores y aspersores en las explotaciones pecuarias, sin embargo existe poca información del uso de estas tecnologías en climas semisecos, incluso tropicales como es el de nuestro estado.

HIPÓTESIS

El incremento en la superficie de sombra en los corrales de engorda intensiva mejora la respuesta productiva de bovinos en finalización en el trópico seco.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia del tipo de sombra en el corral de engorda sobre la respuesta productiva de bovinos en finalización intensiva en trópico seco.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la ganancia de peso (GDP), consumo de materia seca (CMS), conversión alimenticia (CA) y energética de la dieta en ganado bovino en finalización intensiva bajo sombra convencional, doble sombra, domo con abanico y domo sin abanico.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Localización del área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la Unidad para Pruebas de Comportamiento de Bovinos en Engorda de la Ganadería Integral Vizur S.R.L. de C.V., ubicada en Carretera Culiacán-Vitaruto Km 14.5, municipio de Culiacán, Sinaloa (24°50'01.4" N y 107°33'01.1" W), con una altitud de 60 m sobre el nivel del mar y condiciones climáticas de trópico seco. La temperatura promedio anual de la región 25.5 °C con máximo y mínimo de 42.5 y 7.4 °C respectivamente; la humedad relativa máxima de 98% y mínima de 14%, con promedio anual en la región de 68% (CIAD, 2018).

2. Características de la unidad para pruebas

Se conformó por 24 corrales con dimensiones iguales 15 m x 43 m (645 m²), cada corral con su propio bebedero automático tipo canoa teniendo disponibilidad de agua *ad libitum*, y comedero lineal de 15 m (dividido en 5 bloques de 2.5 m). Los corrales disponían de distintos prototipos de sombras distribuidos de la siguiente manera:

- 1) Sombra convencional (SC): 6 corrales con superficie sombreada del 8 % cada uno, a base de 11 láminas metálicas de 6 x 0.80 m (52.8 m²).
- 2) Sombra doble (SD): 6 corrales con superficie sombreada del 16 % cada uno, a base de 22 láminas metálicas de 6 x 0.80 m (105.6 m²).
- 3) Domo sin abanicos (DSA): 6 corrales con superficie sombreada del 100 % (15 x 43 m) sin presencia de abanicos.
- 4) Domo con abanicos (DCA): 6 corrales con superficie sombreada del 100 % (15 x 43 m), cada corral con 3 abanicos industriales con 6 m de diámetro marca Big Vento de baja velocidad (modelo BV06XA1508Megaventilación, S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México).

3. Manejo del ganado

Se recibieron 1560 toros jóvenes sin castrar (289 ± 22 kg PV) de composición racial variada provenientes de distintos centros de acopio de la República Mexicana. Se manejaron de acuerdo con el protocolo establecido por la empresa; los bovinos tuvieron un periodo de adaptación al corral y al sistema de alimentación aproximadamente durante 3 semanas. Como parte del manejo sanitario se les aplicó el programa profiláctico que consiste en vacunación, desparasitación, vitaminado e implantado con el componente TE 200 (que contiene 200 mg de acetato de trenbolona y 20 mg de estradiol; Elanco Animal Health, Inc., EE.UU.); todo el ganado fue reimplantado a los 80 días posteriores al primer implante. El manejo incluyó el pesaje (báscula ganadera tipo individual NORAC, serie U, cap. 4,540 kg, con indicador digital: Rice lakeweightingSystems, Modelo: IQ+335-2A) e identificación con arete de plástico numerado para control interno; el peso inicial fue considerado como criterio para bloqueo.

4. Distribución de bovinos en los corrales.

De acuerdo con el número de bloques y según el peso, los grupos de bovinos se asignó a cada uno de los tratamientos de manera aleatoria (SC, SD, DSA, DCA); cada tratamiento formado por 6 corraletas que fueron consideradas como réplicas. En cada corraleta se alojaron 65 bovinos.

5. Alimentación

La composición de la dieta fue a base de trigo y maíz; clorhidrato de Zilpateron ZIL; Zilmax, MSD, Salud Animal, México) fue incluido en la dieta de acuerdo a las instrucciones de la etiqueta a una tasa de inclusión de 6,4 mg / kg de MS para 30 días seguido de un tiempo de espera 3 días antes de la matanza. El alimento fue servido dos veces por día (0600 y 1300 h) en una proporción aproximada de 50:50 respectivamente con acceso *ad libitum* durante toda la duración del ensayo que se realizó en el período de mayo a noviembre. Las muestras de alimento y la negativa se recogieron diariamente para el análisis DM, que involucró horno de secado las muestras a 105 ° C hasta que no más pérdida de peso se produjo (método 930.15, AOAC 2000).

6. Cálculo del Índice de Temperatura y Humedad

Para calcular el Índice de Temperatura y Humedad (ITH) se hicieron mediciones cada hora de temperatura y humedad a través de equipos dentro de los corrales (Termohigrómetro Avaly; Mod. DTH880, Mofeg, Zapopan, Jalisco) durante todo el período experimental. El ITH se calculó utilizando la fórmula: $ITH = 0.81 \times T + HR (T - 14.40) + 46.40$ (Hahn, 1999), donde T es temperatura ambiente en grados Celsius y HR es la humedad relativa en porcentaje.

7. Respuesta productiva

La ganancia diaria de peso (GDP) se calculó restando el peso inicial del final y dividiendo el resultado por el número de días en los corrales. La conversión alimenticia se determinó dividiendo GDP por el CMS (consumo de materia seca) diaria. La ganancia de energía (por ejemplo, Mcal/d) se deriva de las medidas de PV (kg) y GDP (kg / d) de acuerdo con la ecuación: $GE = (0.0493 W^{0.75}) GDP^{1.097}$ (NRC, 1984). El contenido de energía neta de la dieta para mantenimiento y ganancia se calcularon asumiendo una energía de mantenimiento constante (EM, Mcal / d) el costo de $0.077W^{0.75}$ (NRC, 1984). Los valores EN de las dietas para el mantenimiento y la ganancia se obtuvieron por medio de la fórmula cuadrática: $EN_m, Mcal/kg = (-b - \sqrt{b^2 - 4ac}) / 2c$ (Zinn y Shen, 1998) donde: $a = -0.877DMI$, $b = 0.877EM + 0.41 IMS + GE$, $c = -0.41 EM$, and $EN_g = 0.877EN_m - 0.41$.

8. Análisis estadístico

El experimento se analizó como un diseño de bloques completos al azar, usando el corral como la unidad experimental. Los efectos de los tratamientos se analizaron usando los siguientes contrastes ortogonales: Los efectos fueron contrastadas como: 1) lineal y el componente cuadrático para la asignación de sombra (1.2, 2.4 y 8.8 m²); y 2) la comparación entre los domos: DSA vs DCA. Se consideró un nivel de alfa máximo de ≤ 0.05 para aceptar diferencia estadística y se identificaron tendencias cuando el valor de p fue $> 0,05$ y ≤ 0.10 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se presentan los valores registrados durante el periodo experimental de las variables climáticas. Se observa que la oscilación térmica fue de 29.27 °C; con valor mínimo medio 19.59 °C hasta alcanzar la temperatura máxima media de 37.04 °C; en este mismo lapso la media de humedad relativa (HR) fue de 72.35 % llegando hasta 97.84% como valor máximo. Al calcular el índice de temperatura y humedad (ITH), se observó una media de 80.89 unidades durante el periodo, indicando que los bovinos se encontraban la mayor parte del tiempo en la

categoría “peligro” de acuerdo a lo establecido por la Organización Mundial Meteorológica (World Meteorological Organization, WMO; 1989), el ITH máximo superó 92 en todas las semanas del experimento, manteniendo en constante estrés por calor a los bovinos clasificado como “emergencia”, llevando al límite crítico de producción al animal.

Los efectos del tratamiento sobre la respuesta productiva y la energética de la dieta se muestran en el cuadro 2. Al aumentar el espacio de sombra por animal, tiende a incrementar la GDP (lineal, $P = 0.08$), sin embargo, no hubo aumento de la eficiencia alimenticia ni energía neta de la dieta. Por lo tanto, el aumento de la sombra no parece reducir el valor de la EM del ganado expuesto al calor; la ganancia se explica directamente al aumento de la ingesta de energía. De acuerdo con Hahn (1999) y Leonard, Spiers y Hahn (2001) los bovinos tienden a reducir la carga de calor metabólico mediante la disminución de CMS en condiciones de calor.

La carga de calor del medio ambiente es el resultado entre factores extrínsecos (temperatura ambiente, radiación, velocidad del viento y humedad relativa) que provoca la producción de calor metabólico sumado de la capacidad de los bovinos para disipar el calor corporal (Mader, 2003; NRC, 2000). Si los animales no son capaces de restablecer el equilibrio homeostático en un lapso corto de tiempo, los aumentos progresivos de hasta el 25% en el gasto de energía de mantenimiento afectan negativamente el aumento de peso y la eficiencia alimenticia (NRC, 1981).

Brown-Brandl *et al.* (2005) indican que en el ganado que fueron finalizados en largos periodos dentro de la categoría de “peligro”, el proporcionar sombra se convirtió en el factor más importante para mitigar la carga de calor en comparación a los que fueron alojados sin sombra. Barajas *et al.* (2009) en un experimento realizado en clima tropical con duración de 248 días, menciona que proporcionar sombra aumento la GDP 8.8% y mejoró G:F por 6.1% en comparación con aquellos sin sombrear. Barajas, Garcés y Zinn (2013) señalaron que en el ganado sin sombra aumentaron la GDP, la eficiencia alimenticia y la EN en la dieta al proporcionar el 70% de alimento por la tarde. Sin embargo, en presencia de sombra, el horario de alimentación no afecto el rendimiento del ganado o la EN en la dieta.

El ganado alojado en Sombra Doble muestra mayor CMS que los otros tratamientos (efecto cuadrático, $P = <0.01$) ya que los aumentos en CMS no era equivalente a los aumentos en GDP; Por lo tanto, la EN de la dieta, EN esperado sobre observado, tendió a ser menor (efecto cuadrático, $P = 0.08$) en la Sombra Doble. Sullivan *et al.* (2011) observaron un efecto similar en su experimento donde el ganado que se le proporciono 4.7 m² de sombra muestra menos ganancia en relación a la IMS con aquellos que tenían menos área sombra (2 m² y 3.3 m² sombra/animal).

El Domo Con Abanico aumento la GDP (6%, $P = 0.03$), pero no la eficiencia alimenticia. Aun cuando el uso del ventilador aumentó numéricamente 3% EN de ganancia, esto no fue estadísticamente significativa. El movimiento del aire es un factor de gran impacto que ayuda la mitigación de calor, ya que aumenta la pérdida de calor por convección y evaporación (Mader, Dahlquist y Gaughan, 1997).

CONCLUSIONES

Se concluye que la proporción en el espacio de sombra afecta la ganancia diaria pero no la eficiencia alimenticia o energía de la dieta. Aumentar el área de sombra por animal incrementa la ganancia diaria a diferencia de proporcionar menor porcentaje de sombra recomendada que

disminuye la ganancia de peso diaria. El uso de tecnología como los ventiladores mejoran la GDP y el peso final. Proporcionar ventiladores en el clima tropical son eficaces para sobrellevar la carga de calor que aumentar la superficie sombreada.

Tabla 1. Temperatura ambiente (Ta), humedad relativa media (RH), e índice de temperatura y humedad media (THI)¹ registrado durante el experimento (duración 171 días).

Semana	Min Ta, °C	Media Ta, °C	Max Ta, °C	Min HR, %	Media HR, %	Max HR, %	Min ITH	Media ITH	Max ITH
1	19.71	27.29	35.49	33.23	60.22	85.77	64.13	76.27	93.24
2	18.59	27.18	36.35	23.61	52.82	79.94	62.45	75.17	93.39
3	23	29.3	36.52	36.43	62.92	87.6	68.16	79.51	95.36
4	24.73	29.29	35.12	46.08	67.5	85.57	71.19	80.18	92.58
5	24.61	30.22	36.75	40.6	63.91	83.4	70.48	80.99	94.81
6	25.76	30.62	36.74	45.44	67.05	86.05	72.43	82.08	95.38
7	25.61	30.39	36.79	45.21	67.77	87.94	72.21	81.85	95.89
8	25.31	30.48	36.69	45.71	68.85	91.04	71.89	82.16	96.41
9	25.16	30.34	36.29	47.08	70.3	90.44	71.85	82.18	95.59
10	24.77	29.55	35.72	52.94	75.26	93.89	71.95	81.74	95.35
11	24.71	29.63	35.99	54.14	78.7	95.24	72	82.39	96.11
12	25.99	30.48	36.99	50.42	74.52	92.94	73.3	83.07	97.36
13	25.56	29.91	35.91	52.45	75.73	93.52	72.96	82.37	95.6
14	24.58	28.65	34.01	59.65	83.19	97.84	72.38	81.46	93.05
15	24.84	29.17	35.18	55.83	80.06	95.89	72.35	81.85	94.82
16	25.46	29.66	35.83	55.43	80.67	96.63	73.15	82.73	96.13
17	24.77	29.05	34.24	59.44	81.84	97.79	72.63	81.92	93.54
18	25.79	29.74	35.24	56.59	80.01	95.47	73.74	82.76	94.84
19	25.54	29.22	34.79	60.37	82.54	96.08	73.81	82.3	94.17
20	25.27	29.62	36.14	51.13	77.49	94.03	72.43	82.19	96.12
21	23.25	27.95	34.4	49.56	75.2	92.91	69.62	79.23	92.85
22	24.91	29.94	36.69	49.91	74.45	90.84	71.82	82.22	96.37
23	23.62	29.26	37.04	38.79	67.13	87.98	69.11	80.08	96.32
24	22.87	28.33	35.75	39.21	68.14	88.82	68.25	78.84	94.32
25	20.93	26.55	34.25	42.12	72.6	92.87	66.1	76.73	92.58
Media	24.21	29.27	35.79	47.65	72.35	91.22	70.81	80.89	94.88
DS	1.91	1.09	0.93	8.97	7.7	4.75	2.86	2.11	1.4

¹ THI = 0.81 × temperatura ambiente + [(humedad relativa/100) × (temperatura ambiente - 14.4)] + 46.40 (Hahn, 1999).

Tabla 2. Influencia del tipo de sombra sobre respuesta productiva y la energética de la dieta de engorda de novillos.

Variable	Tipo de sombra ¹					<i>p</i>		
	SC	SD	DSA	DCA	EEM	Lineal	Cuadrático	TS vs TSF
Días en engorda	172	172	172	172				
Corrales	4	4	4	4				
Peso, kg ²								
Inicial	286.5	286.7	287.2	287.0	1.22	0.69	0.96	0.99
Final	483.5a	489.7a	495.3a	507.8b	4.90	0.16	0.43	0.05
Ganancia de peso, kg/d	1.153a	1.187a	1.219a	1.297b	0.023	0.01	0.65	0.03
Consumo de MS, kg/d	7.06a	7.59b	7.49b	7.62b	0.087	0.06	0.01	0.31
Eficiencia alimenticia	0.163ab	0.157a	0.164ab	0.171b	0.003	0.58	0.11	0.12
EN Observada, Mcal/kg								
Mantenimiento	2.01ab	1.92a	1.98ab	2.03b	0.03	0.92	0.08	0.26
Ganancia	1.35ab	1.28a	1.33ab	1.38b	0.03	0.92	0.08	0.26
EN, observada sobre esperada ³								
Mantenimiento	0.985ab	0.947a	0.976ab	1.001b	0.02	0.92	0.08	0.26
Ganancia	0.985ab	0.933a	0.970ab	1.000b	0.011	0.92	0.08	0.26
CMS observada sobre esperada	1.05ab	1.10a	1.07ab	1.03b	0.015	0.86	0.09	0.27

Diferente literal en la fila significa diferencia estadística (P<0.05).

¹ SC = sombra convencional (1.2 m²/sombra/animal); SD = sombra doble (2.4 m²/sombra/animal); DSA = domo sin abanico (8.8 m²/sombra/animal); DCA = domo con abanico (8.8 m²/sombra/animal).

² Peso inicial y final se redujeron 4% para considerar el relleno tracto digestivo.

³ La EN esperada de la dieta para los ingredientes se basa en los valores tabulares del NRC

LITERATURA CITADA

- Barajas, R., B. J. Cervantes, J. A. Romo, F. Juárez, M. A. Espino, E. A. Velázquez. 2009. Influence of pen-shade on feedlot performance and carcass characteristics of bulls naturally exposed long time to high temperature. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* 60:112–115. ISSN: 1080-7446 DOI: 10.15232/S1080-7446(15)30296-5.
- Barajas, R., P. Garcés, R.A. Zinn. 2013. Interactions of shade and feeding management of feedlot performance of crossbred steers during seasonal periods of high ambient temperature. *The Prof. Anim. Sci.* 29:645-651. ISSN: 1080-7446 DOI: 10.15232/S1080-7446(15)30296-5.
- Brown-Brandl T.M., Eigenber R.A., Nienaber, J.A. y Hahn, G.L. 2005. Dynamic Response Indicators of Heat Stress in Shaded and Non.shaded Feedlot Cattle, Part 1: Analyses of Indicators. *Biosyst. Eng.* 90(4):451-462. ISSN: 1537-5110 DOI: 10.1016/j.biosystemseng.2004.12.006.
- CIAD. 2018. Sistema estadístico del clima automatizado de Sinaloa. <http://187.141.135.166/CIAD/DatosPorMes.aspx> (Consulta, enero 2018).
- FAO. 2009. Como alimentar al mundo en el 2015. www.fao.org (Consulta, diciembre 2017).
- FAO. 2014. Producción y sanidad animal. www.fao.org (Consulta, octubre 2017).
- Hahn G., 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Anim. Sci.* 82:10-20. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/1997.77suppl_210x.
- Leonard, M. J., D. E. Spiers, G. L. Hahn. 2001. Adaptation of feedlot cattle to repeated sinusoidal heat challenge. *Livest. Environ. Symp., Beijing, China. Am. Soc. Agric. Eng., St. Joseph, MI.* 119p. DOI: 10.13031/2013.7066.
- Mader, T. L., J. M. Dahlquist, J. B. Gaughan. 1997. Wind protection effects and airflow patterns in outside feedlots. *J. Anim. Sci.* 75:26–36. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/1997.75126x
- Mader, T.L. 2003. Environmental stress in confined beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81:110-119. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/2003.8114_suppl_2E110x.
- Mitlöhner F.M., Galyean M.L. y McGlone J.J. 2002. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. *J. Anim. Sci.* 80:2043-2050. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.1093/ansci/80.8.2043.
- Mitlöhner F.M., Morrow J.L., Dailey J.W., Wilson S.C., Galyean M.L., Miller M.F. y McGlone J.J. 2001. Shade and water misting effects on behavior, physiology, performance, and carcass traits of heat-stressed feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 79:2327-2335. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/2001.7992327x

- National Research Council. 1981. Effect of Environment on Nutrient Requirements of Domestic Animals. National Academy Press, Washington, DC. 152p. ISBN: 0-309-03181-8
- National Research Council. 1984. Nutrient Requirements of Beef Cattle. National Academy Press, Washington, DC. 57p. ISBN: 0-309-03447-7
- National Research Council. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. National Academy Press, Washington, DC. DOI:10.17226/9791
- Olivares B.O, Guevara E., Oliveros Y. y López L. 2013. Aplicación del índice de confort térmico como estimador del estrés calórico en la producción pecuaria de la Mesa de Guanipa, Anzoátegui, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 31(3):209-223. ISSN: 2542-3436 <http://www.bioline.org.br/pdf?zt08089>
- Roca C.A.J. 2011. Efecto del Estrés Calórico en el Bienestar Animal, una Revisión en Tiempo de Cambio Climático. *Espamciencia* 2(1):15-25. ISSN: 1390-8103 <http://investigacion.esпам.edu.ec/index.php/Revista/article/view/147/125>
- Rossner M.V., Aguilar N.M. y Koscinczuk P. 2010. Bienestar animal aplicado a la producción bovina. *Rev. Vet.* 21(2):151-156. ISSN: 1695-7504 <http://revistas.unne.edu.ar/index.php/vet/article/viewFile/1948/1696>
- Rubio L.M.S., Braña V.D., Méndez M.R.D. y Delgado S.E. 2013. Sistemas de producción y calidad de carne bovina. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Querétaro, México. 49p. ISBN: 978-607-37-0095-5.
- Schütz K.E., Rogers A.R., Cox N.R. y Tucker C.B. 2009. Dairy cows prefer shade that offers greater protection against solar radiation in summer: Shade use, behaviour, and body temperature. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 116(1):28-34. ISSN: 1525-3198 DOI: 10.3168/jds.2010-3608.
- SIAP. 2016. Avance acumulado de la producción pecuaria. www.infosiap.siap.gob.mx (Consulta, diciembre 2017).
- SIAP. 2017. Avance acumulado de la producción pecuaria. www.infosiap.siap.gob.mx (Consulta, diciembre 2017).
- Silanikove N., 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 67:1-18. ISSN: 1871-1413 DOI: 10.1016/S0301-6226(00)00162-7.
- Sullivan M.L., Cawdell-Smith A.J., Mader T.L. y Gaughan J.B. 2011. Effect of shade area on performance and welfare of short-fed feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 89:2911-2925. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/jas.2010-3152.
- USDA, 2017. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. www.fas.usda.gov (Consulta, diciembre 2017).

- Veissier I. y Boissy A. 2007. Stress and welfare: two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiol. Behav.* 92(3):429-433. ISSN: 0031-9384 DOI: 10.1016/j.physbeh.2006.11.008.
- World Meteorological Organization. 1989. Animal health and production at extremes of weather. Technical Note No.191. Secretariat of the World Meteorologic Organization. Ginebra, Suiza. 181p. ISBN: 92-63-10685-1.
- Zinn R.A, Shen Y. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J Anim Sci.* 76:1280–1289. ISSN: 1525-3163 DOI: 10.2527/1998.7651280x

FLORA Y VEGETACIÓN DE LA PLANICIE Y ARROYO EL AGUAJE DE LA SIERRA DE BAROBAMPO, MUNICIPIO DE AHOME, SINALOA, MÉXICO.

Juan Gaxiola Félix ¹, Álvaro Reyes Olivas², Bardo Heleodoro Sánchez Soto³, Rito Vega Aviña⁴, Pedro Casillas Alvarez³.

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte.

juangax@hotmail.com. ²Director de tesis de la

Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. ³Asesor de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. ⁴Asesor de la Facultad de Agronomía de Culiacán.

INTRODUCCIÓN

Nuestro país es parte de la misma tendencia global de destrucción de los recursos vegetales, agravada por el desconocimiento taxonómico y ecológico de los recursos; los estudios florísticos y ecológicos son indispensables para conocer los recursos vegetales y planear su aprovechamiento y conservación. El estado de Sinaloa se encuentra ubicado en una de las franjas de máxima diversidad florística de la República Mexicana (Rzedowski, 1991; Vega *et al.*, 2000), y aún no existe un inventario florístico completo para apoyar otras investigaciones, entre ellas el análisis de la vegetación. Sobre este aspecto, las investigaciones existentes son mayormente de tipo cualitativo (p. e. Shreve, 1934; 1937; Gentry, 1942a, 1942b). En el mismo enfoque caben las investigaciones más recientes en islas de Sinaloa (Flores *et al.*, 1996; Hernández y Vega, 1989; Díaz, 2008), el análisis preliminar sobre la flora de Sinaloa realizado por Vega *et al.* (1989) y el listado florístico preliminar de la flora vascular de la comunidad La Guásima, localizada en el sur de Sinaloa, donde se registran 785 especies, en 434 géneros y 105 familias (Ruiz *et al.*, 2015). En las islas se han realizado también algunos estudios con enfoque cuantitativo (Reyes *et al.*, 2008; Sánchez *et al.*, 2016).

La Sierra de Barobampo, ubicada al norte del estado de Sinaloa, y los parches de matorral y bosque espinoso de sus planicies adyacentes, carecen de estudios florísticos y ecológicos. El bosque espinoso, principal tipo de vegetación de la planicie, está asociado con suelos profundos y es uno de los recursos más amenazados por la apertura de tierras de cultivo y granjas acuícolas. Este presenta una alta riqueza de especies debido a que se encuentra conformado por un mosaico de diversas comunidades vegetales, en las cuales no se han examinado las variantes estructurales y su composición florística, además del reemplazo de elementos vegetales en la zona de transición del Desierto Sonorense (Shreve, 1937). En particular estos rasgos se acentúan en el área de la planicie y arroyo El Aguaje en donde la mayor humedad amplía la diversidad florística. Es por ésta característica que se ha tomado como muestra para realizar un acercamiento a la composición florística y descripción de la vegetación de la Sierra de Barobampo. El presente trabajo pretende abordar el estudio florístico-ecológico de la planicie y arroyo El Aguaje de la Sierra de Barobampo, municipio de Ahome, Sinaloa, con la finalidad de contribuir al conocimiento de la flora y vegetación del estado; esta información servirá para fundamentar acciones de manejo y conservación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El conocimiento de la flora de Sinaloa es fragmentario e incompleto, lo que dificulta la estimación real de su componente biótico. Los estudios florísticos son escasos en el estado y todavía hay muchas regiones sin explorarse, especialmente las serranías aisladas que atraviesan la planicie costera sinaloense. En particular en el norte confluyen algunas sierras que carecen de estudios biológicos que encaminen a conocer el recurso vegetal y los trabajos se han enfocado en las islas que integran las Bahías de Ohuira y Navachiste, desatendiendo zonas de la parte continental. Por tal motivo, se decidió estudiar una porción de la Sierra de Barobampo, la cual está conformada por el Cañón del Diablo, la planicie y arroyos estacionales que irrigan las planicies adyacentes de la región. Además, esta región presenta un elemento paisajístico especial, que es visitado por muchas personas de poblaciones cercanas, con motivos académicos, recreativos y de esparcimiento. Por lo tanto, una investigación para conocer la flora de la región aportaría elementos indispensables para proponer acciones de conservación y protección.

HIPÓTESIS

El matorral espinoso de la región tiene una alta semejanza florística con los matorrales costeros del Desierto Sonorense; el reemplazo de especies y la riqueza vegetal de este matorral de transición está determinado por factores climáticos y edáficos.

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio florístico-ecológico de la planicie y arroyo El Aguaje de la Sierra de Barobampo.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Elaborar un inventario de las especies de plantas vasculares que ocurren en el área de estudio.
2. Describir las comunidades vegetales presentes en el área de estudio, en términos de su estructura y composición florística.
3. Generar un análisis de la vegetación en la región en función de las variables físicas del ambiente.
4. Realizar una comparación de la riqueza florística del sitio de estudio con otras regiones con vegetación similar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio.- El área de estudio se encuentra situada en la porción norte del estado de Sinaloa, entre los 26°02' y 26°03' de latitud norte y los 109°01' y 109°04' de longitud oeste. Tiene una longitud aproximada de 7.0 km y una anchura promedio de 300 m. La cota altitudinal varía entre los 60 y 100 m. La mayor parte de la superficie consiste de un arroyo y una planicie. Limita al sur con el Cañón del Diablo, en el extremo norte con el

tanque elevado del pueblo de Barobampo, en la parte este con la carretera federal México 15 y al oeste con la zona del Aguaje (Anónimo, 1979). El substrato para el área de estudio se compone de rocas ígneas extrusivas ácidas que se originaron en el periodo Terciario de la era Cenozoica. Entre los tipos de suelos predominantes se encuentran los litosoles, vertisoles y regosoles (Anónimo, 1981). En la zona de estudio predominan el clima seco (BS) y el cálido (Aw) con lluvias en verano según la clasificación de Köppen, modificado por García (1973). La temperatura media anual es de 24.4°C y la precipitación media anual es de 344 mm (García, 1973).

El bosque espinoso es el principal tipo de vegetación en el área de estudio (Rzedowski, 1978, 1979).

Colecta y prensado de material botánico.- La colecta de ejemplares botánicos se realizó por medio de visitas semanales al área de estudio, dentro de un periodo que comprendió de agosto de 2017 a julio de 2018. En el transcurso de las salidas de campo se realizó una colecta exhaustiva de todas las especies, siempre procurando recolectar flores y frutos. Se cubrió todos los hábitats y tipos de vegetación, así como los diferentes microhábitats del área de estudio. La colecta consistió en tomar muestras de cada especie de las plantas vasculares presentes en el área. Se recolectaron cinco duplicados de cada uno con el objeto de disponer de suficiente material para realizar la identificación y la posterior depositación de ejemplares en los diferentes herbarios nacionales e internacionales. Un juego completo será depositado en el Herbario "Carlos Darwin" de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, UAS; otro juego completo será depositado en el Herbario "González Ortega" de la Facultad de Agronomía, UAS; los restantes serán distribuidos a través del programa de intercambio por la primera institución mencionada. El prensado del material botánico se realizó utilizando las técnicas tradicionales de colecta para cada forma biológica (Lot y Chiang, 1986). En particular para el caso de las plantas suculentas se utilizarán las técnicas citadas en el manual de herbario de estos mismos autores.

Registro de datos.- Se tomaron una serie de datos en el campo con referencia al sitio de colecta y caracteres de las plantas. Los datos del sitio de colecta serán: ubicación geográfica, localidad, fecha de colecta, altitud, tipo de vegetación, características edáficas y especies dominantes. Los datos con referencia a cada colecta serán: hábito de crecimiento, nombre común, altura, color y textura de la corteza en el caso de árboles, abundancia, color de flor y fruto, usos regionales y otras características que no se conservan o no se aprecian en el ejemplar seco.

Herborización.- Este proceso consistió en colocar las prensas botánicas con las plantas colectadas en una secadora a una temperatura aproximada de 70°C, en la cual permanecerán de 24 a 48 horas o más, según las características de los ejemplares. Una vez secados los ejemplares se procedió a formar paquetes de los duplicados con el mismo número de colecta. Posteriormente se seleccionó un ejemplar de cada paquete que contenga las características deseadas y en buenas condiciones para proceder a definir su identidad taxonómica.

Elaboración de etiquetas.- Esta etapa consistió en la elaboración de etiquetas, donde se incluyó la información de campo y la información taxonómica. Los datos que se incluyeron fueron: nombre científico, estado, municipio, ubicación geográfica, altitud, forma biológica, altura de la planta, color de flor, tipo de vegetación, hábitat, abundancia, fecha de colecta, nombre del colector, número de colecta y nombre de la persona que realizó la identificación taxonómica. Se elaboró una etiqueta para cada uno de los ejemplares.

Identificación taxonómica.- La identificación de los ejemplares botánicos se realizó mediante el uso de claves taxonómicas, monografías, floras regionales y revisiones de los taxa. Los nombres fueron cotejados con ejemplares identificados del Herbario "González Ortega" de la Facultad de Agronomía, UAS, Herbario Nacional del Instituto de Biología de la UNAM (MEXU) y del Herbario-Hortorio del Colegio de Postgraduados (CHAPA) para corroborar su determinación. Además se recurrió a los especialistas en algunos grupos taxonómicos que presentaron dificultad para su identificación.

Inventario florístico.- El inventario florístico fue conformado por un listado con los nombres de los taxa colectados e identificados. Los nombres científicos están citados de acuerdo a las bases de datos de Tropicos del Missouri Botanical Garden (TROPICOS, 2018) y The Plant List del Real Jardín Botánico de Kew (The Plant List, 2013). Los taxa fueron arreglados alfabéticamente en la lista y el sistema de clasificación utilizado fue el propuesto por APG IV (APG, 2016). Además, se incluyó para cada especie el hábito de crecimiento, nombre del colector y número de colecta. Para establecer el estado de riesgo de las especies, se revisaron la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) y la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2018).

Comparación con otras floras.- Se realizó una comparación de la riqueza florística derivada de este estudio con las floras de la Planicie Costera del Noroeste con el mismo o similar tipo de vegetación, en particular con el Cañón de Nacapule, Sonora (Felger, 1999) y la Sierra El Pinacate, Sonora (Felger, 2000). La comparación se hizo solamente para la riqueza florística y la superficie del área de estudio donde fueron encontradas las especies.

Descripción de las comunidades vegetales.- a) Selección de sitios de estudio: se realizó una prospección con mapas y con recorridos en la zona con el fin de determinar los lugares adecuados para el trabajo de campo, es decir, lugares donde se localicen comunidades contrastantes fisonómicamente.

b) Estructura y composición florística: el método para el muestreo de la vegetación consistió en la estratificación del área (planicie y arroyo) para establecer unidades de muestreo aleatorias por estrato, cuyas dimensiones fueron de 100 m² (Gentry, 1982). En total se establecieron 36 parcelas de la unidad de muestreo (0.36 ha). En cada unidad de vegetación se registraron las especies leñosas de las formas biológicas (arbustos y árboles), que estuvieron enraizadas dentro del cuadro y si las copas de estas formas interceptaban el cuadro también se incluían en el registro. Las mediciones que se hicieron fueron: altura de la planta, cobertura, número de tallos, diámetro de tres tallos en el caso de los arbustos; esta

medición se realizó por arriba de los 10 cm, desde la superficie del suelo y el diámetro que se consideró fue mayor o igual a 1 cm. El diámetro de los árboles se midió por arriba de 10 cm de la superficie del suelo. Para registrar las hierbas se utilizaron dos cuadros de 2 m² (1 x 1) dentro del cuadro de 100 m² y los datos registrados fueron: identidad taxonómica y densidad. Las variables estructurales en cada sitio que se analizarán son: área basal, frecuencia, densidad y cobertura. Además, se recolectaron las plantas no reconocidas en campo para precisar su identidad en el herbario y asegurar la calidad de los datos. Todos los sitios de muestreo fueron etiquetados y registrados con un geoposicionador. c) Análisis de variables ambientales: en cada unidad de muestro se registraron datos del ambiente: profundidad de suelo (tres registros), cobertura rocosa (sobre dos líneas de 10 m), pendiente, muestra de suelo para analizar las propiedades físicas y químicas. Estos registros nos servirán para intentar establecer la relación de la distribución de las comunidades contrastantes con estas variables ambientales. El análisis de los datos se realizará con técnicas multivariantes de ordenación y clasificación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FLORA: Se recolectaron 412 números con cinco duplicados cada uno. En total se registra la presencia de 262 especies de plantas vasculares, integradas en 206 géneros, repartidos en 63 familias; para la planicie y arroyo El Aguaje de la Sierra de Barobampo. El grupo taxonómico mejor representado es Magnoliophyta con 260 especies, 204 géneros y 61 familias, de las cuales 234 especies (89.31%) pertenecen a la Clase Eudicotiledóneas, 182 géneros (88.35%) y 55 familias (87.30%), posteriormente están las Monocotiledóneas con 26 especies (9.92%), 22 géneros (10.68%) y 6 familias (9.52%). El grupo de las Pteridophytas es el más pobre en cuanto a la riqueza florística con 2 especies (0.76%), 2 géneros (0.97%) y 2 familias (3.17%).

La mayor riqueza de géneros está integrada en 13 familias de plantas vasculares, que suman en total 126 géneros y representan el 61.16% de todos los géneros registrados. En particular ésta riqueza se concentra en las familias Fabaceae con 26 géneros, Asteraceae (16), Poaceae (15), Euphorbiaceae (12), Malvaceae (12) y Cactaceae (10), que suman un total de 91 géneros (44.15%) del total de géneros. Las siete familias que completan este grupo y con un número menor de especies son: Acanthaceae con 6 géneros, Apocynaceae (6), Solanaceae (6), Convolvulaceae (5), Malpighiaceae, Amaranthaceae y Boraginaceae (4 cada una). Las otras 50 familias representan el 38.84% del gran total de géneros y éstas incluyen a tres géneros, dos y uno. Sin duda, se aprecia la dominancia y relevancia de las familias Fabaceae, Asteraceae, Poaceae y Euphorbaiceae, en la riqueza genérica de la flora local, valores equiparables que se manifiestan en la flora fanerogámica mexicana, es decir, estos taxa ocupan los primeros lugares en cuanto al número de géneros y especies (Rzedowski, 1991; Villaseñor, 2004, 2016).

La mayor riqueza de especies está acumulada en 14 familias de plantas vasculares, las cuales suman a 179 especies que representan el 68.32% del total de las especies en la flora. En orden de importancia específica destacan las primeras nueve familias: Fabaceae con 34 especies, Euphorbiaceae (24), Poaceae (18), Asteraceae (17), Cactaceae (14), Malvaceae (13), Solanaceae (12), Convolvulaceae y Acanthaceae (11 cada una), estas suman un total

de 154 especies y alcanzan más de la mitad (58.78%) del total de las especies encontradas en la planicie y arroyo El Aguaje de la Sierra de Barobampo. Las familias restantes con un número menor de especies son: Apocynaceae con 7 especies, Boraginaceae (6), Amaranthaceae, Malpighiaceae y Moraceae (4 cada una), las cuales representan el 9.52% (25 especies). Las otras 49 familias incluyen menos de tres especies cada una y representan el 31.68% del total de las especies. De igual manera, que en el caso de los géneros, las familias más ricas en especies son las Fabaceae, Euphorbiaceae, Poaceae y Asteraceae, solo que el segundo lugar lo ocupa la familia Euphorbiaceae, que también presenta una amplia distribución en todo el territorio mexicano y es una de las familias más diversas en México (Villaseñor, 2003, 2016).

Los géneros con mayor número de especies son: *Euphorbia* con 8, *Ipomoea* (7), *Acacia* (5), *Solanum* y *Ficus* (4 cada uno), *Acalypha*, *Justicia*, *Ruellia*, *Bouteloua*, *Cylindropuntia* y *Physalis* (3 cada uno). Estos 11 géneros, incluyen 46 especies de plantas vasculares, por tanto, se calcula que el 17.55% de las especies de la planicie y arroyo El Aguaje, están incluidas en el 5.33% de los géneros presentes en el área de estudio. Estos géneros que presentan mayores especies para la zona de estudio, en particular, los géneros *Euphorbia*, *Ipomoea*, *Solanum*, *Acalypha* y *Justicia*, también son los más diversos en México y ocupan diferentes lugares dentro de la lista de 25 géneros más diversos (Villaseñor, 2016).

Las formas de crecimiento mejor representadas en el área de estudio son las hierbas anuales con el 23.28%, los arbustos están representados por el 19.46%, le siguen los árboles que constituyen el 17.17%, después se encuentran las hierbas perennes con el 14.88%, las trepadoras representan el 9.54%, luego siguen las sufrútices con 5.72%, enseguida las crasicaules con el 5.35%, las sarcocaulales con el 1.90%, después las parásitas con el 1.52% y por último las rosetófilas con el 1.14%.

Con base en el trabajo de Villaseñor (2016) se registraron 62 especies endémicas a México. El endemismo está distribuido en 32 familias, destacando las familias: Cactaceae con 9 especies, Fabaceae (7), Asteraceae y Euphorbiaceae (4 cada una), Apocynaceae, Acanthaceae, Convolvulaceae y Cucurbitaceae (3 cada una), Boraginaceae y Rhamnaceae (2 cada una). Las otras 22 familias presentan una sola especie endémica cada una. Para la región oeste y noroeste de México (Vega-Aviña, *et al*, 2000), se detectaron 27 especies endémicas. El endemismo se reparte en 17 familias, destacando las familias Cactaceae con 6 especies, Euphorbiaceae (3), Fabaceae (3), Asteraceae y Cucurbitaceae (2 cada una), las familias restantes con una especie endémica cada una.

Con relación a especies protegidas, se encontraron seis especies bajo alguna categoría de riesgo con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, para la protección de especies nativas de México. Las especies de plantas vasculares bajo alguna categoría de riesgo son: *Echinocereus sciurus* subsp *floresii* (Backeb.) N.P. Taylor, en la categoría de sujeta a protección especial (Pr), *Mammillaria marksiana* Krainz (Pr), *Peniocereus marianus* (Gentry) Sánchez-Mej. (Pr), *Tabebuia chrysantha* (Jacq.) G.Nicholson en la categoría de Amenazada (A), *Guaiacum coulteri* A. Gray (A) y *Amoreuxia palmatifida* Moc.& Sessé ex DC. (Pr).

Para el caso de especies de plantas reportadas en CITES (2018) dentro del Apéndice II, se encontraron todas las especies incluidas en la familia Cactaceae registradas en este trabajo

(14 especies) y las especies del género *Guaiaicum*; en nuestro estudio encontramos *Guaiaicum coulteri* A. Gray.

La comparación de la riqueza florística de la planicie y arroyo El Aguaje de la Sierra de Barobampo con la de otras regiones del noroeste de México, muestra que el área de estudio presenta una alta riqueza florística; si consideramos el reducido tamaño del área trabajada que fue de 3.0 km² aproximadamente. Lo anterior, se demuestra al comparar este trabajo con la flora del Cañón de Nacapule, Sonora que registra 64 familias, 200 géneros y 266 especies, encontradas en una superficie de 13.4 km². Otra comparación importante es con la sierra El Pinacate, Sonora, que registran 58 familias, 192 géneros y 285 especies en una superficie de 4967.6 km². Por tanto, los valores de los taxa son muy similares y nos indica que nuestra área de estudio alberga un número considerable de todas las especies presentes en la Sierra de Barobampo.

CONCLUSIONES

En este trabajo, se encontraron 262 especies de plantas vasculares, en un área continental que carecía de estudios florísticos y de vegetación. Estos registros están presentes en una superficie muy reducida y que forma parte de la Sierra de Barobampo con mucha mayor extensión superficial. El número de especies encontradas es la más alta, hasta el momento para el norte de Sinaloa.

En la planicie y arroyo El Aguaje de la Sierra de Barobampo, se registraron 27 especies (10.30%) endémicas a la región oeste y noroeste de México y 62 especies (23.66%) endémicas a México. Esta proporción de endemismos indica que en la región se acentúan especies únicas en cuanto a su distribución y que merecen estar bajo algún plan de protección e integrar la zona en los planes de manejo y conservación de recursos vegetales de México. Además, se encontraron 6 especies en algún grado de protección de acuerdo con SEMARNAT (2010), 14 especies de cactáceas y una especie de guayacán encontradas en el Apéndice II de CITES (2018).

La presencia de mayor humedad y factores edáficos en el área de estudio favorecen el incremento de la riqueza florística.

LITERATURA CITADA

Anónimo. 1979. Carta topográfica. 1:50,000, Chihuahuita (G12 B86). Dirección General de Estudios del Territorio Nacional, México, D.F.

Anónimo. 1981. Atlas Nacional del Medio Físico. 1:1,000 000. Dirección General de Geográfica del Territorio Nacional, México, D.F.

APG. 2016. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants. APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society 181(1): 1-20 DOI: <http://dx.do.org/10.1111/boj.12385>

CITES. 2018. Lista de especies CITES. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. www.checklist.cites.org

- Díaz, J. S. (2008). Diversidad florística y estructura de la vegetación de las islas de los sistemas lagunares Navachiste y Macapule del norte de Sinaloa. Tesis de Maestría. CIIDIR-Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional, 133p.
- Felger, R. S. 1999. The flora of Cañón de Nacapule: a desert-bounded tropical canyon near Guaymas, Sonora, México. *Proc. San Diego Soc. Nat. Hist.* 35: 1-45.
- Felger, R. S. 2000. Flora of the Gran Desierto and Río Colorado of Northwestern México. The University of Arizona Press. Tucson. 673p.
- Flores C.L. M., Vega A.R., Benítez P.D., Hernández A.F. 1996. Flora de la Isla Venados de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. *Anales de Inst. Biól., Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.* 67:283-301.
- García E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 2ª. Edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 246p.
- Gentry A.H. 1982. Patterns of Neotropical plant species diversity. *Evol. Biol.* 15:1-84.
- Gentry H.S. 1946a. Sierra de Tacuichamona-a Sinaloa plant locale. *Bull. Torr. Bot. Club* 73:356-362.
- Gentry H.S. 1946b. Notes on the vegetation of Sierra de Surotato in northern Sinaloa. *Bull. Torr. Bot. Club* 73:451-462.
- Hernández A.F., Vega A.R. 1989. Flora de la Península de Lucenilla. Secretaría de Educación Pública y Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa. 24p.
- Lot A., Chiang F. 1986. Manual de Herbario. Administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. Consejo Nacional de la Flora de México, A. C., México, D.F. 142p.
- Reyes O. A., Apodaca O. A. V., Sánchez C. J. H., Casillas A. P. 2008. Relación del suelo y la topografía con la diversidad y la estructura de la vegetación insular en el desierto costero de Sinaloa, México. *En: Flores-Campaña L.M. (Ed.). Estudios de las Islas del Golfo de California*, pp. 53-66, Universidad Autónoma de Sinaloa-Gobierno del Estado de Sinaloa-Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Culiacán, Sinaloa, México.
- Ruiz G.M., Van Devender T.R., Reina G.A.L., Mejía M.P., Van der Heiden A.M. 2015. A preliminary checklist of vascular plant flora of Guásima, southern Sinaloa, northwestern México. *Phytoneuron* 2015-63:1-25.
- Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Editorial Limusa, México D.F. 432p.
- Rzedowski J. 1979. Los bosques secos y semihúmedos de México con afinidades neotropicales. pp. 37-47 en: Ravinovich J. y Halffter G. (eds). *Tópicos de Ecología Contemporánea*. Fondo de Cultura Económica, México, D.F.
- Rzedowski J. 1991. El endemismo de la flora fanerogámica mexicana: Una apreciación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana* 15:47-64.
- Sánchez S. B. H., García M. E., A. Reyes O., Romero M. A., Luna C. M. 2016. Factores topográficos y edáficos que influyen en la estructura de especies perennes de islas de la costa de Sinaloa, México. *Botanical Sciences*, 94: 1-11.
- Shreve F. 1934. Vegetation of the northwestern coast of México. *Bull. Torr. Bot. Club* 61:373-380.
- Shreve F. 1937. Lowland vegetation of Sinaloa. *Bull. Torr. Bot. Club* 64:605-611.
- The Plant List. 2013. Versión 1.1. <http://www.theplantlist.org>

TROPICOS. 2018. Tropicos.org.at Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>

Vega A.R., Bojórquez B.G.A., Hernández A.F. 1989. Flora de Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa. 49p.

Vega A.R., Aguiar H.H., Gutiérrez G.J.A., Hernández V.J.A., Vega L.I.F., Villaseñor J.L. 2000. Endemismo regional presente en la flora del Municipio de Culiacán, Sinaloa, México. *Acta Botánica Mexicana* 53:1-15.

Villaseñor, J. L. 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*. 28: 160-167.

Villaseñor, J. L. 2004. Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 75: 105-135.

Villaseñor, J. L. 2016. Checklist of the Native vascular plants of México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 87: 559-902.

EVALUACIÓN DE LA COMUNIDAD BACTERIANA PRESENTE EN EL HÍBRIDO DE TILAPIA ROJA *Oreochromis* sp. CULTIVADOS EN AGUA DE MAR CON BIOFLOCS Y PROBIÓTICOS.

Jesús Antonio Álvarez Cantú^{1*}, Irasema Elizabeth Luis Villaseñor¹, María Isaura Bañuelos Vargas¹, María del Rosario Pacheco Marges¹, Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de oca¹, Ana María Rivas Montaña², Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias de Mar.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR), jesusalvarez_200@hotmail.com

²Instituto Tecnológico Nacional de México, Tecnológico de Mazatlán (ITMAZ).

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la comunidad bacteriana heterotrófica de un sistema de biofloc (BFT) en agua de mar adicionado con probióticos comerciales (AQUAPROTEC[®], AQUABLEND[®], NUTRIMAX[®]) y su efecto en la composición de la comunidad bacteriana intestinal de la tilapia roja híbrida cultivada a dos densidades. Se realizó un bioensayo con juveniles *Oreochromis* sp. (6.87 ± 0.26 g, peso inicial) cultivados en biofloc promovidos con melaza, salvado y harina de maíz (Biofloc) y probióticos (Biofloc+Probiótico). Como control, se cultivaron organismos en agua de mar sin biofloc ni probióticos. La duración del bioensayo fue de 7 semanas. La toma de muestras (intestinos, flóculos y agua) fue: al inicio, mitad y final del experimento. Se realizó la extracción de ADN de intestino de tilapia de cada una de las muestras obtenidas y se determinó la composición de la microbiota por secuenciación masiva (plataforma Illumina MiniSeq). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con la base de datos EzBioCloud. Los resultados obtenidos indican diferencias significativas de la comunidad bacteriana presente en los tratamientos con biofloc a través de tiempo; con una reducción en la comunidad de las familias *Vibrionaceae* (15.45%), *Fusobacteriaceae* (20.36%), *Prochlorotrichaceae* (75.67%), pero con el aumento de *Aeromonadaceae* (55.17%). Los resultados de los análisis mostraron un incremento en la diversidad α . Asimismo, los parámetros de calidad del agua, especialmente los compuestos nitrogenados, se mantuvieron óptimos a las recomendaciones para el cultivo de peces. Por lo tanto, los BFT permiten una modulación de una gran diversidad bacteriana para los organismos en cultivo.

Palabras clave: Calidad de agua, Metagenómica, Secuenciación, 16s rRNA, Región V3

ABSTRACT

In the present work, we evaluated the heterotrophic bacterial community of a biofloc system (BFT) in seawater added with commercial probiotics (AQUAPROTEC[®], AQUABLEND[®], NUTRIMAX[®]) and its effect on the composition of the intestinal bacterial community of tilapia hybrid red cultivated at two densities. A bioassay was performed with juveniles of *Oreochromis* sp. (6.87 ± 0.26 g, initial weight) cultivated in biofloc raised with molasses and corn (Biofloc) and probiotics (Biofloc + Probiotic). As a control, organisms were cultured in sea water without biofloc and probiotics. The duration of the bioassay was 7 weeks. Samples (intestines, flocs and water) were obtained at the beginning, middle and the end of the

bioassay. The extraction of DNA in tilapia intestine was performed and the composition of the microbiota was determined by massive sequencing (Illumina MiniSeq platform). The obtained sequences were compared with the EzBioCloud database. The results indicate significant differences in the bacterial community present in the biofloc over time ; Also was observed a significant reduction in the community of the families Vibrionaceae (15.45%), Fusobacteriaceae (20.36%), Prochlorotrichaceae (75.67%), but with an increase of Aeromonadaceae (55.17%). The results of the analyzes showed an increase in the diversity α . During the all bioassay the quality parameters of the water, especially the nitrogenous compounds, remained optimal. Therefore, BFT allow a modulation of a great bacterial diversity for organisms in culture.

Key words: Water quality, Metagenomics, Sequencing, 16s rRNA, Region V3

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, dentro del sector acuícola, se han diseñado una serie de sistemas de producción para el cultivo de diversos organismos acuáticos, orientados a disminuir la utilización del agua y del suelo, aumentando considerablemente la densidad de cultivo (Timmons *et al.*, 2002, Hargreaves, 2006). Un ejemplo interesante de este tipo de sistemas, es el denominado biofloc, el cual consiste en el desarrollo de flóculos microbianos formados a partir de una alta relación Carbono: Nitrógeno en el agua, con poco o nulo recambio y alta oxigenación (Avnimelech, 2012; Emerenciano *et al.*, 2013). El crecimiento de la comunidad microbiana y el aumento de la densidad de nutrientes en los sistemas de cultivo conducen a la formación de materia floculada que contiene mezcla de diversos microorganismos heterotróficos, bacterias filamentosas, partículas formadoras de flóculos, coloides, polímeros orgánicos, cationes y células muertas (Jorand *et al.*, 1995; Hargreaves, 2006; Avnimelech, 2007; De Schryver *et al.*, 2008; Martínez-Cordova *et al.*, 2016). El beneficio potencial del biofloc se fundamenta en mantener las condiciones de calidad del agua en relación con la fijación y control del nitrógeno inorgánico tóxico (NH_4^+ , NH_3 , NO_2^- y NO_3^-), y en generar *in situ*, proteína microbiana aprovechable como alimento por la especie cultivada (Emerenciano, 2013; Monroy-Dosta *et al.*, 2013; Ekasari *et al.*, 2014;). Este aumento de nitrógeno promovido por el crecimiento bacteriano disminuye la concentración de amonio. Así mismo, la presencia de las bacterias degradadoras de nitrógeno como *Nitrospira* sp., *Nitrobacter* sp. y *Bacillus* sp., es benéfico, porque estos géneros están asociados a un mejor mantenimiento de la calidad del agua de cultivo (Hargreaves, 2006). Diversos autores señalan que estos grupos son dominantes en este tipo de sistemas, logrando un biocontrol efectivo sobre microorganismos patógenos (Avnimelech *et al.*, 1999, 2009; Crab *et al.*, 2012). Además de funcionar en la acuicultura como biomarcadores ambientales o centinelas, efluentes-biorremediadores, probióticos y una fuente directa de alimento para las especies cultivadas (Caruso, 2013; Martínez-Córdova *et al.*, 2015). Desde las etapas larvarias, los peces se encuentran en contacto con bacterias (Wu *et al.*, 2012) las cuales juegan un papel crucial en la asimilación de nutrientes y en el sistema inmune, ya que la microbiota interviene en la degradación de lípidos y proteínas (Bairagi *et al.*, 2002); así como previene la proliferación de bacterias patógenas por la producción de algunas sustancias inhibitoras de crecimiento de otras bacterias (Hansen & Olafsen, 1999; Wu *et al.*, 2012). Por lo que se han realizado estudios de la inclusión de suplementos alimenticios,

como los prebióticos y probióticos, que prevengan o eviten la aparición de enfermedades y operen como promotores de crecimiento (Crab *et al.*, 2012; Emerenciano *et al.*, 2013; Pandey *et al.*, 2014). Por lo tanto, es crucial estudiar la variación en las especies que componen esta comunidad. Un conocimiento profundo de estas variaciones requiere el conocimiento de la diversidad, distribución y función de los microorganismos en los sistemas (Cheng *et al.*, 2007; 2010). El estudio de comunidades microbianas con el uso de técnicas moleculares como la metagenómica para la identificación de organismos existentes (Hebert *et al.*, 2003) puede proporcionar una comprensión más profunda de estas relaciones mediante la realización de asociaciones de la información revelada por el ADN extraído con organismos o ecosistemas particulares (Suttle, 2007; Gianoulis *et al.*, 2009), lo cual permite el análisis de genomas complejos contenidos dentro de un nicho (Nielsen *et al.*, 2014), para caracterizar la composición microbiana y el potencial metabólico de la comunidad de manera rápida y con un gran poder de resolución (Hugenholtz y Tyson, 2008). Ahora es posible elucidar la extensión de la gran diversidad de microorganismos a través del análisis de regiones hipervariables de 16S rDNA para procariontes y 18S para eucariotas (Hugerth *et al.*, 2014). Mientras que para acceder al contenido genético de comunidades enteras de comunidades microbianas en diferentes entornos y para descubrir nuevos genes y enzimas de interés industrial y médico (Susana y Raimondi, 2013) se trabaja con secuencias de ADN identificadas como unidades taxonómicas operacionales (OTU), las cuales son unidades para la clasificación de un grupo de secuencias que se encuentran separadas de otras por métodos de agrupamiento jerárquico basados en características de similitud usando un umbral de identidad y permiten utilizar a las secuencias como un taxón putativo al que posteriormente se le puede asignar una identidad taxonómica (Yarza *et al.*, 2014). Por tal, en el presente trabajo se evaluó la comunidad bacteriana heterotrófica presente en los sistemas BFT adicionado con un probiótico comercial y su efecto en la composición de la comunidad bacteriana intestinal de la tilapia híbrida. Los resultados de este estudio ayudarán a una mejor comprensión de las comunidades presentes en este tipo de sistemas y de las implicaciones en los organismos de cultivo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tecnología de cultivo de Biofloc representa una alternativa viable por el aporte de proteína microbiana adicional para los organismos en cultivo. El uso de consorcios microbianos como probióticos contribuye en la estabilidad de la comunidad bacteriana intestinal del organismo hospedero, así mismo ambas tecnologías promueven un efecto benéfico, mejorando la calidad del agua y mitigando los factores de estrés, contribuyendo en el crecimiento y supervivencia del mismo. Por tal, el análisis de las comunidades bacterianas asociada a la materia floculada y al intestino de la tilapia por el método de secuenciación nos permitirá conocer las implicaciones nutricionales y de salud para el organismo en cultivo.

HIPÓTESIS

El uso de probióticos en un cultivo con biofloc favorece la estabilidad de las comunidades heterotróficas presente en los flóculos lo que promueve una microbiota intestinal benéfica incrementando así el crecimiento de la tilapia roja híbrida.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

Evaluar la comunidad bacteriana heterotrófica presente en el intestino de tilapia roja híbrida, floculos y agua en un sistema marino con bioflocs con la adición de probióticos.

1. Comparar la estructura de la comunidad bacteriana presente en el intestino del híbrido de tilapia con y sin probióticos en un cultivo con bioflocs.
2. Determinar la estructura de la comunidad bacteriana presente en agua de cultivo y flóculos.
3. Evaluar si existe una relación entre las variables ambientales (temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, nitrito, nitrato, alcalinidad y sólidos sedimentables) en agua con la comunidad bacteriana en agua.
4. Determinar el crecimiento (en peso) de la tilapia roja cultivada en un sistema marino con bioflocs y adicionado con probiótico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR), donde se realizó un bioensayo con juveniles de tilapia roja (peso promedio inicial de 6.87 ± 0.26 g). Para este estudio se trabajó con un diseño factorial 3x2, donde un factor principal fue la densidad ($D_1= 119 \text{ org/m}^3$ y $D_2= 248 \text{ org/m}^3$), y para cada densidad se tenía un control de agua clara (D_1C y D_2C), con biofloc (D_1B y D_2B); y con biofloc más un probiótico comercial (D_1BP y D_2BP). En total fueron 6 tratamientos con 3 réplicas cada uno; las cuales fueron distribuidas completamente al azar (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental

Factor A (Tratamientos de prueba)			
Factor B (Densidad)	Control (C)	Biofloc (B)	Biofloc + probióticos (BP)
Densidad 1 (119 org/m^3)	D_1C	D_1B	D_1BP
Densidad 2 (248 org/m^3)	D_2C	D_2B	D_2BP

El experimento tuvo una duración de 7 semanas, durante los cuales todos los tratamientos fueron diariamente alimentados con una dieta comercial formulado (NUTRIPEC®). Durante el cultivo, se utilizaron aireadores circulares de manguera Aerotube® de 1/2" (25 cm de diámetro) que estaban conectados a un blower de 2.5 HP. Se utilizó agua de mar de la bahía de Mazatlán (previamente filtrada en mallas de $50 \mu\text{m}$) para las diferentes unidades experimentales.

Para promover el biofloc en los tratamientos correspondientes, previamente fueron preparados una mezcla de melaza y harina de maíz con agua del tanque respectivo y puestos a incubar con aireación durante 18 horas; mientras que a los tratamientos con probióticos, además de lo anterior se agregaron los probióticos comerciales (AQUAPROTEC®, AQUABLEND®, NUTRIMAX®) según las especificaciones del fabricante.

Colecta de muestras

La colecta de muestras de intestinos se realizó tomando 3 organismos por réplica al inicio, intermedio (4ta semana) y final del experimento (7ma semana) y se almacenaron a -20°C

para su posterior análisis. También se determinó la supervivencia y ganancia en peso de los organismos. Las muestras de agua y flocs fueron colectadas al tiempo cero (antes de iniciar la siembra de los peces), al inicio (24 horas después de sembrados los peces), la mitad y final del experimento.

Variables Ambientales

Durante el experimento se realizó el monitoreo diario de la temperatura (T °C), oxígeno disuelto (mg/L) y salinidad (‰) a través de equipos de medición previamente calibrados. Una vez por semana se midieron las variables de pH, amonio (mg/L), nitratos (mg/L), nitritos (mg/L) y alcalinidad (mg/L), utilizando kits comerciales de YSI, los cuales fueron leídos en un equipo YSI 9300. Cabe destacar que cuando los valores de alcalinidad fue menor a los 100 mg/L, fue necesario adicionar carbonato de calcio o bicarbonato de calcio para ajustar su concentración hasta lograr mínima dicha concentración. La cantidad de flóculos (ml/L) se midió una vez por semana, utilizando conos de sedimentación Imhoff. Todas las variables se tomaron *in situ* en cada punto de extracción.

Extracción de ADN bacteriano en intestinos, flóculos y agua para metagenómica

La extracción del ADN bacteriano, para determinar la composición de la microbiota en intestinos fue mediante un kit específico llamado ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit, siguiendo el protocolo del fabricante, mientras que para floculos se utilizó el protocolo de extracción de ADN propuesto por Harhu *et al.* (2004) con algunas modificaciones, para la extracción de ADN en agua se siguió la metodología propuesta por Boström *et al.* (2004).

Amplificación del gen 16s y generación de librerías y secuenciación masiva

Para la identificación de la comunidad microbiana presente en la tilapia roja se utilizó la técnica de secuenciación masiva. La secuenciación (amplificación, generación de librerías y secuenciación masiva) se realizó en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (Unidad Mazatlán), con el uso de la plataforma de secuenciación masiva Illumina Mini Seq con previo aislamiento de ADN de cada una de las muestras. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con la base de datos EzBioCloud. Así mismo se correlacionó la comunidad bacteriana con variables ambientales y nutrientes (temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, nitrito, nitrato, alcalinidad y sólidos sedimentables).

Preparación de Biblioteca del gen 16S

Se amplificó la región V3 y V4 del gen 16S rRNA, usados para estudios de diversidad clásica y nueva generación basados en secuenciación, la longitud total de los primers es de ~ 250 bp, las secuencias de nucleótidos a utilizar fueron propuestos por Klindworth *et al.* (2013). Posteriormente se amplificó la región V3 del gen 16S rRNA, como template se utilizó el producto de la purificación de la región V3 y V4, la longitud total de los primers es de ~ 300 pb las secuencias de nucleótidos a utilizar fueron propuestas por Huse *et al.*, (2008). Se preparó una mezcla de reacción para PCR empleando Titanium® Taq DNA Polymerase. El ADN de la cepa CAIM 1407 de *Vibrio cholerae*, fue usado como control positivo del gen 16S rRNA, esta es de la Collection of Aquatic Important Microorganisms (CAIM,

www.ciad.mx/caim). El control negativo fue la mezcla de reacción sin el ADN. Las condiciones del termociclador fueron las siguientes: 95°C/1'→ 30 (95°C/0:30'→56°C/0:30'→68°C/0:30') 1(68°C/5') 4∞

El producto de la amplificación de PCR fue separado por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (peso/volumen) en Buffer TAE 1X (50X 242 g Tris, 100 mL 0.5 M EDTA, 57.1 mL ácido acético glacial) al cual se le adicionó 1 µL de gel Red®. El gel se cargó con 4 µL de producto de PCR y 2 µL de cargador, además se colocó 5 µL de marcador de peso molecular (800 pb DNA Ladder, Kapa Biosystems). La electroforesis se llevó a cabo a 100 V por 30 minutos a temperatura ambiente y fue visualizado en fotodocumentador.

Construcción de biblioteca para secuenciación.

Se amplificó la región V3 utilizando una PCR de ciclo limitado añadiendo adaptadores de secuencias de Illumina y códigos de barra de doble índices a estas secuencias se denominaron P5 y P7, la longitud total de los primers con índices es de ~ 300 pb. Estas secuencias fueron añadidas en los extremos de la cadena de ADN permitiendo hibridar en la *flow cell* donde se llevó a cabo la secuenciación. Se preparó una mezcla de reacción para PCR empleando Titanium® *Taq* DNA Polymerase. Las condiciones del termociclador fueron las siguientes: 95°C/1'→ 8 (95°C/0:30'→56°C/0:30'→68°C/0:30') 1(68°C/5') 4∞

Análisis bioinformático

Las secuencias generadas por Illumina son en par (pair-end) que contienen dos secuencias de la misma molécula de ADN (3' -> 5' y la otra 5' -> 3'), el equipo generó una carpeta por muestra que contiene dos archivos en formato fasta.gz. Fueron limpiadas y ensambladas y convertidas a formato fasta. Las secuencias fueron analizadas con el software EzBioCloud para su clasificación a nivel de familia.

Análisis estadístico

Para conocer si existen diferencias significativas entre las muestras en los diferentes tiempos, así como también entre los grupos de tratamientos se utilizó el programa *PRIMER V7* y *PERMANOVA* utilizando un análisis de componentes principales por sus siglas en inglés (PCA) de los OTU's con un nivel de confianza del 95%. Se realizó un análisis de porcentaje de similitud por sus siglas en inglés SIMPER para poder observar cuales taxones aportaban una mayor influencia a las diferencias encontradas, así mismo un análisis de Clúster jerárquico para conocer el porcentaje de similitud de las muestras de acuerdo al perfil de similitud SIMPROF con un nivel de significancia del 5%. Se estableció el coeficiente de correlación de la comunidad bacterianas con las variables ambientales y con los nutrientes inorgánicos disueltos mediante la utilización de BEST (BioEnv) así mismo haciendo uso de un análisis de componentes principales (PCO) utilizando el coeficiente de correlación de Pearson. Estos análisis se basaron en una matriz de similitud calculada mediante la distancia Bray-Curtis, especialmente recomendada cuando se trata de parámetros biológicos (Clarke & Warwick, 1994), todo esto previa transformación de los datos con raíz cuarta. Para conocer si hay diferencias entre las variables ambientales se

realizó un análisis de varianza de dos vías utilizando el software SigmaPlot 12.0. Todas las pruebas se realizarán con un nivel de significancia del 5% (Zar, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los microorganismos son una parte fundamental de las redes tróficas en ambientes acuáticos, ya que contribuyen a la recirculación de nutrientes e interactúan con una amplia gama de organismos (Cruz-Leyva *et al.*, 2015). Para entender y comprender su relación y función específica se hace uso de la metagenómica ya que es una herramienta emergente para el estudio de comunidades de microorganismos no cultivables (Vieites *et al.*, 2008). En el presente estudio, las comunidades bacterianas estuvieron representadas por 43 phylum de los cuales los que mostraron mayor abundancia fueron: Proteobacteria (76.5 %), Fusobacteria (9.3%), Cyanobacteria (2.9%), Chloroflexi (2.6%), Tenericutes (2.2%), Firmicutes (2.15%), Bacteroidetes (1.3%). Sin embargo, Proteobacteria fue la familia más abundante en todos los tratamientos, coincidiendo con lo reportado por Cienfuegos *et al.*, (2018) donde los phylum más abundantes en su investigación fueron Proteobacteria y Bacteroidetes; así mismo Deng *et al.*, (2018) reportan que independientemente de la fuente de carbono a utilizar en sistemas biofloc, estos phylum son los más abundantes. Para evaluar las diferencias en las comunidades bacterianas intestinales se realizó un análisis de PERMANOVA, donde las comunidades bacterianas encontradas en el tratamiento Biofloc para el final (tiempo 3) mostró diferencias significativas ($P < 0.01$) con respecto a las comunidades encontradas en los demás tratamientos (Control, Biofloc+Probiótico) durante el tiempo 1 (inicio) y 2 (mitad). Además, Durante el tiempo 1 y tiempo 3, hay una disimilitud promedio de 47.1% entre los tratamientos, reportando que la familia *Prochlorotrichaceae* redujo su abundancia promedio en un 75.7%, *Vibrionaceae* (15.5%) y *Fusobacteriaceae* (20.4%). Por otro lado, durante el tiempo 2 con respecto al tiempo 3 hay una disimilitud promedio de 40.8%, reportando que la familia *Prochlorotrichaceae* redujo su abundancia promedio en un 15.6%, *Fusobacteriaceae* (31.9%), *Vibrionaceae* (20.2%), *Rhodobacteraceae* (6.0%). Las familias de bacterias encontradas en los tratamientos Control con respecto a los tratamientos Biofloc a lo largo del tiempo y que aportaban dichas diferencias fueron: *Fusobacteriaceae* (que disminuyeron en un 44.03%), *Vibrionaceae* (8.96%), *Rhodobacteraceae* (3.02%) y *Mycoplasmataceae* (13.97%), así como un incremento de las familias *Aeromonadaceae* (55.17%).

Por otro lado, los análisis de componentes principales (PCO, por sus siglas en inglés) indican que, durante el tiempo 1, las comunidades bacterianas de todos los tratamientos presentaron una correlación negativa significativa con respecto al Amonio (-0.817), la Alcalinidad (-0.669) y el pH (-0.641), demostrando que conforme estas variables cambian las comunidades presentan un cambio en sentido inverso. Mientras que para el tiempo 2 y 3, se presentó una correlación positiva con nitritos (0.610). Lo anterior puede estar relacionado a que se trabajó con agua de mar, y en estos el Phylum más dominante es Proteobacterias, capaces de convertir nitratos a nitritos, lo cual es importante para el proceso de reciclaje de nutrientes y la mineralización de componentes orgánicos en sistemas acuáticos (Cardona *et al.*, 2016). Así mismo, el análisis Best (BioEnv), partiendo de la Distancia Euclidiana, mostró una correlación global significativa de las variables ambientales y nutrientes con las comunidades microbianas de 0.524, donde la mejor correlación fue representada por pH, amonio y nitritos,

con una correlación de 0.535. Conjuntamente, el índice de diversidad (Chao 1) indica que la riqueza bacteriana y la diversidad (Shannon) en Biofloc (762 y 4.87 respectivamente) son altos con respecto a los encontrados en los demás tratamientos (Control, Biofloc+Probiótico) a lo largo del tiempo (tiempo 1, 2 y 3). Estos valores son similares a los mencionados por Deng *et al.*, (2018), que obtuvo valores de riqueza y diversidad bacteriana de 677 y 4.82 respectivamente, en cultivos de Biofloc en agua de mar, Además, Luo *et al.*, (2017) informó un valor de índice de Shannon mayor a 5.0 en cultivo de tilapia con Biofloc, lo cual indica que los sistemas con Biofloc permiten la modulación de una gran diversidad bacteriana. Otro de los objetivos fue evaluar el efecto de la adición de probióticos en los sistemas con biofloc sobre la comunidad microbiana intestinal de la tilapia roja híbrida. Los resultados del análisis mostraron que la adición de probióticos modifica la comunidad microbiana intestinal, aunque no lo dominan, debido a que la abundancia de la familia *Bacillaceae* fue muy baja (<1%). Se conoce que en sistema de cultivo Biofloc las condiciones como la fuente de carbono suministrada y el gran aporte de aireación para dichos sistemas favorecen a grupos bacterianos que pueden adaptarse con mayor facilidad a dichas condiciones (Wilén *et al.*, 2008, Ray y Lotz, 2014). Respecto al crecimiento de los organismos, se registró una mayor ganancia en peso en los organismos que se encontraban a una densidad de 119 org/m³ (Densidad 1) comparados con los que se encontraban a una densidad de 148 org/m³ (Densidad 2), mostrando diferencias significativas (P< 0.05 ANOVA one way). Pero, además, el mayor peso promedio se registró en el tratamiento Biofloc+Probiótico de la densidad 1 (Biofloc+Probiótico 1) con un peso final promedio de 56.6 g.

CONCLUSIONES

La adición de probióticos comerciales (AQUAPROTEC®, AQUABLEND®, NUTRIMAX) contribuye en la composición bacteriana intestinal que se refleja en el incremento en la diversidad de especies (Shannon) con el paso del tiempo, pese a que los géneros de los probióticos comerciales se encontraron con una abundancia menor al 1%. Además, se observó una significativa correlación de la composición de comunidades bacterianas con diferentes parámetros de calidad del agua, especialmente los compuestos nitrogenados. Por lo que las comunidades bacterianas asociadas al biofloc permite la degradación de dichos compuestos nitrogenados.

Asimismo, se observó que la adición de probióticos mejoró la ganancia en peso de los organismos cultivados en la densidad 1; aunque no fueron suficientes para igualar su respuesta en los peces de la densidad 2.

Por lo que los resultados sugieren que debe considerarse para futuras investigaciones la dosis y forma de de administración. Por lo tanto, se requiere realizar más investigaciones para evaluar la relevancia de la adición de probióticos en los sistemas Biofloc.

LITERATURA CITADA

- Amann R., Ludwig W., Schleifer K.H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 59:143–169.
- Avnimelech Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture* 264:140–147.

Avnimelech Y. 2012. Biofloc technology -a practical guide book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge:272.

Azim M.E. y D.C. Little. 2008. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 283(1-4):29-35.

Balarin J.D. and Haller R.D. 1982. The intensive culture of tilapia in tanks, raceways and cages. In: J.F. Muir and R.J. Roberts (eds.). *Recent Advances in Aquaculture*. Westview Press, Boulder, Colorado, USA:265-355.

Boström K. H., Karin S. K. H., Hagström Å. y Rieman L. 2004. Optimization of DNA extraction for quantitative marine bacterioplankton community analysis. By the American Society of Limnology and Oceanography, Inc. *Marine Microbiology*, BoM, Kalmar University, S-391 82 Kalmar, Sweden:365–373.

Cock J.M., Tessmar-Raible K., Boyen C., Viard F. 2010. *Introduction to Marine Genomics*, *Advances in Marine Genomics 1*. Springer, Dordrecht:399.

Cienfuegos, K., Monroy M., Hamdan, A., Castro, M., Aguirre J. y Bustos J. 2018. Effect of two probiotics on bacterial community composition from biofloc system and their impact on survival and growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*.; 6(2): 525-533.

Clarke, K. R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18(1988), 117–143. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>

Crab R., Kochva M., Verstraete W. & Avnimelech Y. 2009. Bio-flocs technology application in over-wintering of tilapia. *Aquaculture Engineering* 40:105-112.

Curtis T.P., Sloan W.T., Scannell J.W. 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:10494–10499.

De Schryver P., Crab R., Defoirdt T., Boon N. & Verstraete W. 2008. The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* 277:125–137.

Delgado V., Gallardo-C, Cuevas P. & García U. 2009. Crecimiento compensatorio en tilapia *Oreochromis niloticus* posterior a su alimentación con harina de plátano. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 13(2):55-701.

Emerenciano M., Ballester E.L.C., Cavalli R.O. & Wasielesky W. 2012. Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research* 43:447-457.

Emerenciano M., Cuzon G., Goguenheim J., Gaxiola G. & AQUACOP. 2013. Floc contribution on spawning performance of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *Aquaculture Research* 44:75 –85.

Fox S.M. 1988. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. *Veterinary Medicine* 83, 8:806-810.

Fuller R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66:365- 378.

Fuller R. 1992. History and development of probiotics. En: *Probiotics: The Scientific Basis*, R. Fuller (Ed.). Londres, Chapman & Hall:1-8.

Handelsman J. 2004. Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68:669–685.

- Hargreaves JA. 2006. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture. *Aquaculture Engineering* 34:344-363.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., deWaard, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. (B)* 270:313–321.
- Huse S.M., Dethlefsen L., Huber J. a., Welch D.M., Relman D. a., Sogin M.L. 2008. Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS Genet.* 4.
- Klindworth A., Pruesse E., Schweer T., Peplies J., Quast C., Horn M., Glöckner F.O. 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41:1–11.
- Limin F., Jiazhang C., Shunlong M., Chao S., Liping Q., Gengdong H. & Pao X. 2017. Characterization of microbial communities in intensive GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) pond systems during the peak period of breeding. *Aquaculture Research* 48:459–472.
- Nielsen, H.B., Almeida, M., Juncker, A.S., Rasmussen, S., Li, J. y Sunaga- wa, S. (2014). Identification and assembly of genomes and genetic elements in complex metagenomic samples with- out using reference genomes. *Nature Biotechnology* 32:822–828.
- Orozco R. 2016. Efecto de un simbiótico (Inulina de agave más cepas probióticas) en la exclusión de *Aeromonas hydrophila* en cultivo de *Carassius auratus*. Tesis de maestría en ciencias agropecuarias. Universidad autónoma Metropolitana:75.
- Pullin R.S.V. and Lowe-McConnell R.H. 1982. The Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conference Proceedings 7, International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines:432.
- Saavedra M.A. 2006. Manejo del cultivo de la tilapia. Carrera Ingeniería Industrial. Departamento de Tecnología y Arquitectura. Facultad de Ciencia, Tecnología y Ambiente. Universidad Centroamericana. Managua, Nicaragua:22.
- Stickney P.R., Hesby J.H., McGeachin R.B. and Isbell W.A. 1979. Growth of *Tilapia nilotica* in ponds with differing histories of organic fertilization. *Aquaculture* 17:189-194.
- Timmons M.B., Ebeling J.M., Wheaton F.W., Sommerfelt S.T. & Vinci B.J. 2002. Microbial biofloc and protein levels in green tiger shrimp. *Recirculating aquaculture systems*, Caruga Aqua Ventures, New York: 748.
- Villamil D. y Martínez S. 2009. Probióticos como herramientas biotecnológicas en el cultivo de camarón: Reseña. *Bol. Invest. Mar. Cost.* 38:165-187.
- Zar J. H. 2010. *BIostatistical Analysis*. Fifth Edition. PEARSON. Upper Saddle River, New Jersey 07458:947.

PSÍLIDOS (HEMIPTERA: PSYLLOIDEA) DE LA REGIÓN NORTE DEL ESTADO DE SINALOA, MÉXICO

Arturo González Alfaro ¹, Gabriel A. Lugo-García¹, Laura D. Ortega-Arenas² Álvaro Reyes-Olivas¹, Juan Fernando Sánchez-Portillo¹.

¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. 81110. Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa. ²

Fitosanidad, Entomología y Acarología, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, 56230, Montecillo, Texcoco, Edo. De México, México.

RESUMEN

Los psílicos o piojos saltadores de las plantas (Psylloidea) son un grupo de [insectos hemípteros](#) del [suborden Sternorrhyncha](#) que comprende alrededor de 3850 especies descritas a nivel mundial, que representan un grupo de insectos fitófagos, que se alimentan de una gran diversidad de plantas, con su aparato bucal del tipo “picador chupador”, característica importante en su forma de alimentación y permitiendo la capacidad de ser vectores de enfermedades para distintos hospederos. Con el objetivo de identificar taxonómicamente las especies de psílicos presentes en la región norte del estado de Sinaloa, México, se realizaron muestreos durante septiembre de 2017 a septiembre de 2018, en cultivos agrícolas y vegetación natural establecidos en el Valle del Fuerte y Valle del Carrizo. Se reportan 13 especies de psílicos pertenecientes a 5 familias para la región norte de Sinaloa, siendo 9 especies nuevos registros, 3 especies previamente citadas *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908, *Bactericera cockerelli* Šulc, 1909, *Freysuila dugesii* Aleman, 1887 y una especie no identificada, las cuales pertenecen a la familia Psyllidae, Calophytidae, Aphalaridae, Liviidae y Triozidae.

Palabras clave: *Psyllidae*, *Diaphorina*, *Bactericera*

SUMMARY

Psyllids or jumping plant-lice (Psylloidea) are a group of hemiptera insects of the suborder [Sternorrhyncha](#) which comprises about 3850 species described worldwide, they represent a group of Phytophagous insects that feed from a great variety of plants, they have a sucking biting oral cavity an important characteristic in its way of feeding and allowing them to be disease vectors to different hosts.

With the objective of taxonomically identifying the species of psyllids present in the northern region of the state of Sinaloa, Mexico, samplings were conducted from September 2017 to September 2018, in agricultural crops and natural vegetation established in the Valley of the Fuerte and Valle del Carrizo. 13 species of psyllids belonging to 5 families are reported for the northern region of Sinaloa,

9 species being new records, 3 previously mentioned species *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908, *Bactericera cockerelli* Šulc, 1909, *Freysuila dugesii* Aleman, 1887 and one species not

identified, which belong to the family Psyllidae, Calophyidae, Aphalaridae, Liviidae and Triozidae.

Keywords: *Psyllidae, Diaphorina, Bactericera*

INTRODUCCIÓN

Los psílidos o piojos saltadores de las plantas (Psylloidea) son un grupo de [insectos hemípteros](#) del [suborden Sternorrhyncha](#) que comprende alrededor de 3850 especies descritas incluidas en 180 géneros. Actualmente, las especies se agrupan en las familias Aphalaridae, Calophyidae, Carsidaridae, Homotomidae, Liadopsyllidae†, Liviidae, Malmopsyllidae†, Neopsylloidea†, Phacopteronidae, Psyllidae y Triozidae (Burckhardt y Ouvrard, 2012). En México, se ha estudiado poco la diversidad de psílidos y su relación con las plantas hospederas ya que se tiene registro de siete familias y 114 especies (Caldwell, 1941; Burckhardt y Ouvrard, 2012; Méndez, 2015). Los primeros psílidos registrados en México fueron *Bactericera cockerelli*, así como *Calophya rubra* (Blanchard, 1852) que forma agallas que alteran el crecimiento de ramas y folíolos en pirul *Schinus molle* L., así mismo, *Glycaspis brimblecombei* (Moore) que ataca hojas de *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnh, 1832) (Caldwell, 1941; Cibrián *et al.*, 1995; Cibrián *et al.*, 2001) y en Sinaloa se tiene sólo el registro de *Freysuila dugesii* Alemán, *Bactericera cockerelli* y *Diaphorina citri*, estos últimos registrados como vectores que induce la punta morada en papa y el HLB en cítricos respectivamente (Domínguez, 1979; Garzón-Tiznado, 2005; López-Arroyo *et al.*, 2005; Lugo *et al.*, 2017).

A nivel de especie, los psílidos muestran relación estrecha con la planta hospedera, lo que permite obtener una identificación con base en la relación planta-hospedero (Burckhardt *et al.*, 2006). La fauna del mundo existente de Psylloidea se asocia casi exclusivamente con plantas dicotiledóneas, con unas pocas especies en las angiospermas monocotiledóneas y solamente cuatro especies de coníferas (Hodkinson, 2009). Avilés *et al.*, (2003) reportaron que los psílidos de importancia económica atacan principalmente a plantas de las familias Solanaceae y Rutaceae, pero algunas especies se alimentan de las familias Amaranthaceae, Asclepiadaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Violaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Lycophyllaceae, Malvaceae, Poaceae, Polygonaceae, Rosaceae, Salicaceae y Scrophulariaceae.

El daño principal causado por los psílidos es el debilitamiento de la planta debido en gran parte a la succión de savia, tanto en hojas como brotes. La presencia de psílidos generalmente va acompañada por la aparición de hormigas que se alimentan de la mielecilla que estos insectos excretan, además de que esta sustancia azucarada es un sustrato ideal para el desarrollo de hongos del tipo fumagina, que interfieren con el proceso fotosintético de la planta. Las consecuencias de la infestación se traducen en pérdidas de follaje, decoloración, reducción del crecimiento, muerte de ramas, agallamiento y aumento de

susceptibilidad a otros insectos y enfermedades que pueden causar la muerte regresiva de las plantas, sin embargo, la mayor peligrosidad de algunas especies se relaciona con su capacidad para transmitir patógenos causales de enfermedades para distintos hospederos (Wilcken *et al.*, 2013). Debido a la importancia que tienen estos insectos en la región, su relación con sus hospederos, los factores que determinan la presencia de las especies, sus abundancias relativas, dominancias y densidades poblacionales, este estudio tiene la finalidad de generar información de la diversidad de especies de psílidos presentes en la región norte del estado de Sinaloa.

HIPÓTESIS

La diversidad de especies de psílidos es mayor en vegetación natural que en cultivos agrícolas.

OBJETIVOS

Objetivo General

- 1) Identificar taxonómicamente las especies de psílidos de la región norte del estado de Sinaloa, México.

Objetivos Particulares

- 1) Determinar taxonómicamente las especies de psílidos asociadas a ornamentales y cultivos agrícolas en la región norte del estado de Sinaloa.
- 2) Determinar taxonómicamente las especies de parasitoides y depredadores de psílidos de la región norte del estado de Sinaloa.
- 3) Formar una colección de referencia de las especies de psílidos de la región norte del estado de Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó durante el periodo de septiembre de 2017 a septiembre de 2018, en los cultivos agrícolas establecidos en el Valle del Fuerte y Valle del Carrizo, así como en

vegetación natural de los municipios de Ahome y El Fuerte, Sinaloa (25°56'51" N, 109°02'51" O) y 25 - 110 m de altitud. El clima de la región es cálido húmedo (tipo *Am*) con temperatura promedio de 25°C, con abundantes lluvias en los [meses](#) de [julio](#) a [septiembre](#), precipitación media anual de 419 mm y humedad relativa promedio anual de 65% (SMN, 2017). Las especies vegetales predominantes son *Caesalpinia platyloba* (palo colorado), *Caesalpinia cacalaco* (huizache) Humb. & Bonpl. (Fabales, Fabaceae) *Prosopis juliflora* (mezquite), *Acacia farnesiana* (vinorama), *Acacia cochliacantha* (vinolo), *Parkinsonia florida* (brea), *Parkinsonia praecox* (brea), *Parkinsonia aculeata* (bacaporo), *Pseidium mollis* (palo blanco), *Phitecellobium dulce* (guamúchil), *Populus mexicana* (álamo) y *Salix babylonica* (sauce llorón).

Recolecta e identificación de hospederos e insectos

Para determinar la presencia y abundancia de psílidos en la región se realizaron muestreos quincenales en el periodo de estudio. En cada sitio y fecha de colecta se revisaron las hojas (previa observación del comportamiento del insecto) de las diferentes especies de plantas posibles hospederos de psílidos, localizadas en orillas de cultivos, caminos, drenes y canales. De cada especie vegetal que albergó psílidos, se tomaron dos ejemplares, se prensaron y se les asignó una clave de colecta en la que se anotó la fecha, localidad, algunos datos sobre abundancia y características útiles para la identificación. Posteriormente, los ejemplares se llevaron al laboratorio para someterlos a secado y dejarlos listos para su determinación. Asimismo, se tomaron brotes y hojas del dosel de las plantas; el material vegetal recolectado se depositó en una bolsa plástica con una toalla de papel secante, manteniéndola en refrigeración para su traslado al laboratorio de la Colección Entomológica de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (CEVF), donde se examinaron bajo un microscopio estereoscópico, para registrar el número de huevos, ninfas y adultos de psílidos presentes. Los especímenes encontrados, por especie vegetal, se conservaron en alcohol al 70%, una muestra representativa de ninfas y genitales de machos y hembras se sometió a un proceso de montaje en laminillas de acuerdo con la metodología propuesta por Burckhardt (2007) y los adultos en alfileres entomológicos, para corroborar su identidad.

La determinación de insectos se realizó mediante claves dicotómicas y diagnosis propuestas por Crawford (1914), Burckhardt & Wyniger (2007) y Burckhardt & Queiroz (2015) y análisis de imágenes de adultos, antenas, cabezas y tibias fueron tomadas con un microscopio Carl Zeiss Tessovar y un Fotomicroscopio III de Carl Zeiss y se procesaron con el software Gimp versión 2.8.14. Los ejemplares estudiados se depositaron en las colecciones entomológicas del Valle del Fuerte en la Universidad Autónoma de Sinaloa (CEVF-UAS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se reportan 13 especies de psílidos pertenecientes a 5 familias para la región norte de Sinaloa (Cuadro 1), siendo 9 especies nuevos registros, 3 especies previamente citadas

Diaphorina citri Kuwayama, 1908, *Bactericera cockerelli* (Šulc, 1909), *Freysuila dugesii* Aleman, 1887 y una especie no identificada.

Para la familia Calophyidae se reporta la especie *Calophya spondiadis* Burckhardt & Mendez, 2015 asociada a la especie vegetal *Spondias purpurea* (Ciruelo), Aphalaridae estuvo representada por *Blastopsylla occidentalis* asociada a plantas del género [Eucalyptus](#). En la familia Psyllidae se registró a *Freysuila dugesii* Aleman, 1887, *Euphalerus nidifex* Schwarz, 1904, [Heteropsylla cubana](#) Crawford, 1914, [Heteropsylla texana](#) Crawford, 1914, *Heteropsylla flexuosa* Muddiman, Hodkinson & Hollis, 1992, *Heteropsylla* sp, *Euceropsylla minuticon* Crawford, 1914, y [Aphalaroida inermis](#) Crawford, 1914. Dentro de la familia Liviidae, se encuentra la especie [Diaphorina citri](#) Kuwayama, 1908, la cual ya estaba reportada en el estado dañando plantas del género *Citrus* spp. al igual que la familia Triozidae que esta representada por *Bactericera cockerelli* (Šulc, 1909) esta última responsable de la transmisión de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* en solanáceas. La mayor diversidad de especies se recolectaron en vegetación natural siendo la mayor parte en plantas de la familia Fabaceae y algunas otras en cultivos como chile.

Cuadro 1. Relación de familias, géneros y especies con plantas hospederas y su distribución en la región Norte del estado de Sinaloa.

FAMILIA	ESPECIE	HOSPEDERO	LOCALIDADES
Calophyidae	<i>Calophya spondiadis</i>	<i>Spondias purpurea</i>	Ej. Mártires de Sinaloa, Guillermo Chávez Talamantes, Ej. Palo Verde,
Aphalaridae	<i>Blastopsylla occidentalis</i>	<i>Eucalyptus</i> spp.	Ej. Mártires de Sinaloa.
Psyllidae	<i>Freysuila dugesii</i>	<i>Caesalpinia platyloba</i>	Ej. Venustiano Carranza Ej. Lázaro Cardenas.
	<i>Euphalerus nidifex</i>	<i>Piscidia mollis</i>	San Miguel Zapotitlan.
	<i>Heteropsylla cubana</i>	<i>Leucaena leucocephala</i>	Villa Gustavo Díaz Ordaz, Ej. Mártires de Sinaloa.
	<i>H. flexuosa</i>	<i>Acacia farnesiana</i>	Ej. Lázaro Cardenas.
	<i>H. texana</i>	<i>Prosopis juliflora</i>	Ej. Mártires de Sinaloa, Estación Francisco.
	<i>Heteropsylla</i> sp 1.	<i>Phitecellobium dulce</i>	Ej. Lázaro Cardenas
	<i>Euceropsylla minuticon</i>	<i>Phitecellobium dulce</i>	Ej. Lázaro Cardenas

Liviidae	<i>Aphalaroida inermis</i>	<i>Prosopis juliflora</i>	Ej. Mártires de Sinaloa.
	<i>Diaphorina</i>	<i>citri</i>	<i>Citrus sinensis</i>
	<i>Kuwayama</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>
			Ej. Mártires de Sinaloa, Dolores Hidalgo.
			Ej. Lázaro Cárdenas, Dolores Hidalgo, Revolución Mexicana.
Triozidae	<i>Bactericera</i>	<i>Capsicum annum</i>	Ej. Mártires de Sinaloa, Jahuara II.
	<i>cockerelli</i>		

En ciruelo se recolectó al psílido *Calophya spondiadis*, el cual muestra estrecha relación con la época de brotación de septiembre a noviembre, siendo el mes de octubre cuando se presentan las poblaciones más altas de *C. spondiadis*, existiendo sincronía fenológica entre el psílido y la planta hospedera para la finalización del ciclo de vida, ya que se observó a este alimentándose de las hojas nuevas y brotes tiernos (Fig. 1).

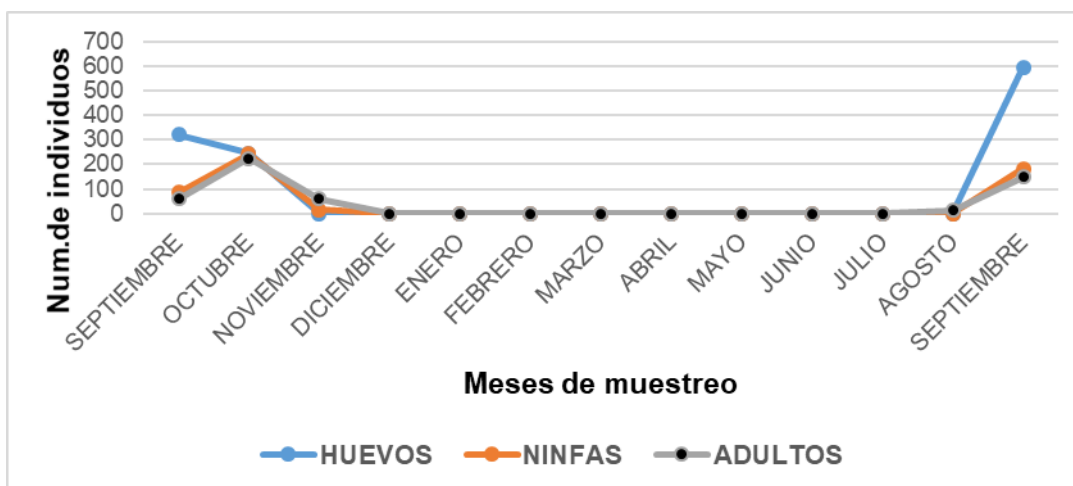


Figura 1: Fluctuación poblacional *Calophya spondiadis* en planta de ciruelo (*Spondias purpurea*). (2017-2018).

Se muestra la fluctuación poblacional del psílido *Euceropsylla minuticon* en guamúchil (*Phitecellobium dulce*), iniciando con la aparición de los primeros psílidos la segunda quincena del mes de enero, coincidiendo con la época de floración del guamúchil y con la aparición de hojas y brotes nuevos, siendo en el mes de febrero cuando se presentan las poblaciones más altas del psílido, disminuyendo a partir del mes de abril y mostrando una alta relación con el crecimiento vegetativo de la planta (Fig. 2).

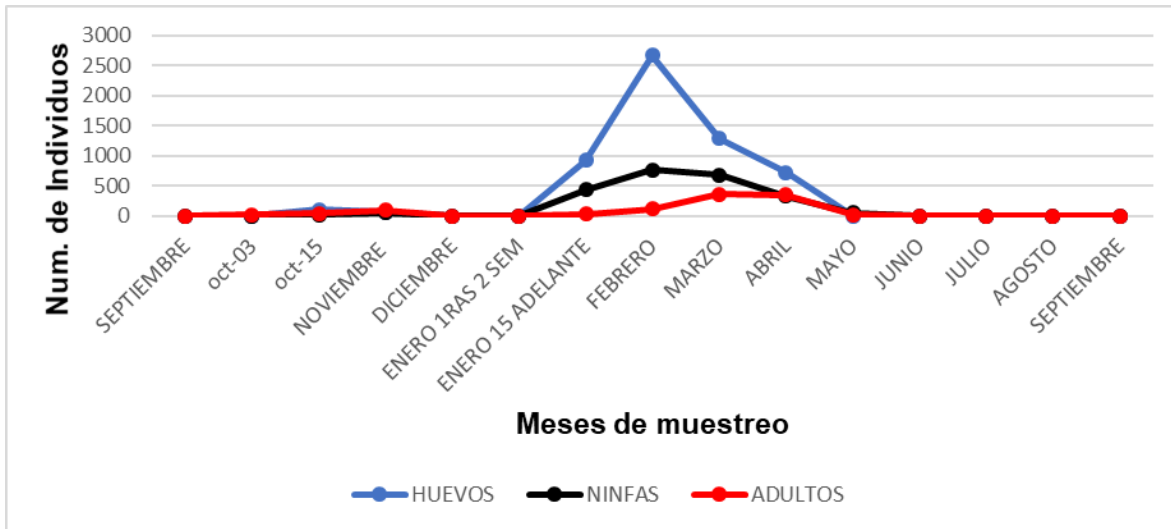


Figura 2: Fluctuacion poblacional *Euceroptysylla minuticon* en planta de guamuchil (*Pithecellobium dulce*). (2017-2018).

El psilido *Heteropsylla cubana* se presentó en el mes de abril, únicamente con la aparición de psilidos adultos, los cuales no rebasaron los 7 ejemplares en total, encontrando estos 7 insectos en solo 2 plantas de un total de 20 revisadas (Fig. 3).

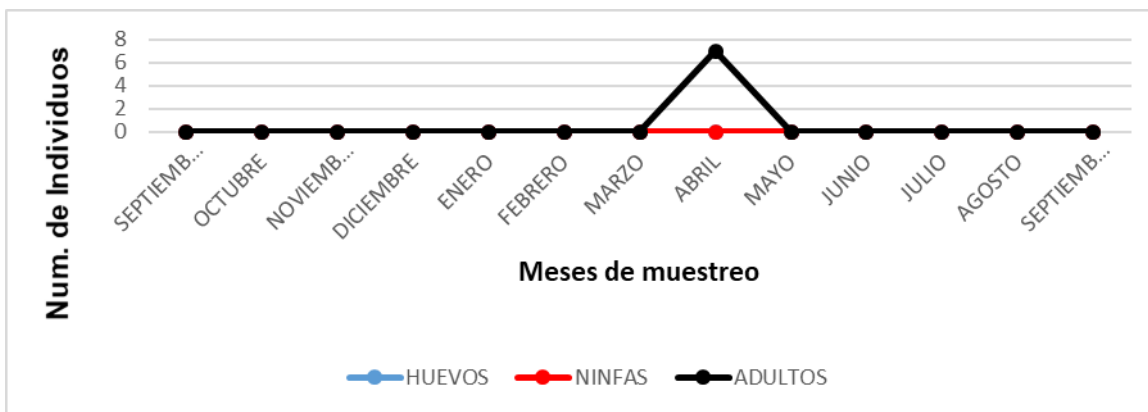


Figura 3: Fluctuacion poblacional *Heteropsylla cubana* en planta de guaje (*Leucaena leucocephala*) (2017-2018).

CONCLUSIONES

- Para la región norte del estado de Sinaloa, la presente investigación registran 13 especies de psilidos, de las cuales tres de ellas se registraron anteriormente, por lo cual se incrementa el número de especies conocidas para el estado.

- Las especies registradas pertenecen a cinco familias de psílidos presentes para el estado: Aphalaridae, Calophyidae, Liviidae, Psyllidae y Triozidae.

LITERATURA CITADA

Aviles, G., M. C.; J. A. Garzón. T.; A. Marín. J.; P.H. Caro. M. 2003. El Psílido del tomate *Paratrioza cockerelli* (Sulc): Biología, Ecología y su control. Memoria. Campos experimentales Bajío y Norte de Guanajuato. pp. 21-35.

Burckhardt D. and D. Ouvrard. 2012. A revised classification of the jumping plant-lice (Hemiptera: Psylloidea). *Zootaxa* 3509: 1-34. ISSN 1175-5334

Burckhardt D. & D. L. Queiroz. 2015. Identification key to Psylloidea (Insecta, Hemiptera) from México. Course Taxonomy, Systematics, Biology and Biogeography of Psylloidea. Colegio de Postgraduados. Estado de México, Montecillo, Texcoco. 4 de agosto 2015.

Burckhardt, D. & Wyniger, D. 2007. The systematic position of *Psylla phorodendri* Tuthill with comments on the New World genus *Freysuila* Alemán (Hemiptera, Psylloidea, Aphalaroidinae). *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, 80: 63-70.

Caldwell S. J. 1941. A preliminary survey of mexican psyllidae (Homoptera). Circleville, Ohio, 418-424. ISSN: 0030-0950

Cibrián T. D., G. Íñiguez y D. L. Dahlsten. 2001. Conchuela del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* Moore (Homoptera: Psylloidea; Spondylaspididae) Una nueva plaga del eucalipto introducida a México. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Entomología. Santiago de Querétaro, Querétaro. pp. E-95.

Cibrián T. D., J. T. M. Méndez, R. B. Campos, H. O. Yates III y J. L. Flores. 1995. Insectos Forestales de México. 1a. ed. UACH. 220 p.

Crawford D. L. 1914. A monograph of the jumping plant-lice or psyllidae of the new world. Bulletin of the United States National Museum, 85: 1-186.

Domínguez R. R. 1979. Taxonomía de Insectos 1a Parte. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Chapingo México, 94-135 pp.

Garzón-Tiznado J. A., J. A. Garzón-Ceballos, S. Velarde-Félix, A. Marín-Jarillo y O. G. Cárdenas-Valenzuela (2005). "Ensayos de transmisión del fitoplasma asociado al 'permanente del tomate' por el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc.) en México". A. Morales M., A. Mendoza E., M. P. Ibarra G. y S. Stanford C. (editores). Entomología Mexicana, Vol. 4. Soc. Mex. de Entomología. Pp. 672-675.

Hodkinson, I. D. 2009. Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. *J. Nat. His.* 43: 1-2, 65-179. ISSN 0022-2933 print/ISSN 1464-5262 online DOI: 10.1080/00222930802354167

López-Arroyo, J. I., Peña, M. A., Rocha Peña, M. A. y Loera, J. 2005. Ocurrencia en México del psílido asiático *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), pp. C68. In: Memorias del VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México.

Lugo-García, G. A., L. D. Ortega-Arenas., J. F. López-Mora y B. H. Sánchez-Soto. 2017. Descripción del psílido del palo Colorado *Freysuila dugesii* Alemán, (Hemiptera: Psylloidea) y sus plantas hospedantes en el norte de Sinaloa, México. *Entomología Mexicana*, 4: 409-413. ISSN: 2448-475X

Méndez T. P. 2015. Psílidos (Hemiptera: Psylloidea) de la región central del estado de Michoacán, México. Tesis Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Fitosanidad-Entomología y Acarología. 82 p.

EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE SALMONELLA ENTERICA ENTERICA IN VITRO

Abril Corona Cárdenas ¹, Gabriela Silva Hidalgo², Héctor Samuel López Moreno³, Vianney Francisco Ortíz Navarrete⁴, Nora María Cárcamo Aréchiga².

¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias (FMVZ-UAS)

abril.coronaa12@gmail.com, ²

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ³Facultad de Ciencias Químico Biológicas,

⁴Centro de Investigación y de Estudios del IPN Avanzados (CINVESTAV)

RESUMEN

Se han descrito brotes de salmonelosis humana causados por cepas resistentes en varios países del mundo y en varios de estos eventos, el origen de las cepas estuvo asociado con animales domésticos y, en algunos casos, con animales silvestres en cautiverio. Sabemos que el serovar más estudiado, es Typhimurium por ser modelo murino de tifoidea de humano pero se desconoce cuál es el comportamiento de otros serovares implicados en problemas de salud en seres humanos, ya que existen reportes que sugieren un potencial zoonótico, donde se puede evidenciar la necesidad de ampliar nuestro conocimiento sobre la relación hospedero-bacteria, iniciando con la adhesión, invasión y supervivencia intracelular de la bacteria *Salmonella enterica enterica in vitro*, ya que mayor frecuencia de genes de patogenicidad mayor podría ser su adhesión, invasión y supervivencia intracelular. Palabras clave: *Salmonella*, patogenicidad, *in vitro*.

ABSTRACT

Outbreaks of human salmonellosis caused by resistant strains have been described in several countries of the world and in several of these events the origin of the strains was associated with domestic animals and some cases, with wild animal in captivity. As we know well the most studied serovar is Typhimurium, because it is a murine typhoid model of human but the behavior of other serovars involved in health problems is unknown, since there are reports that suggest a zoonotic potential, where it can be evidenced the need to broaden our knowledge about the host-bacteria relationship, starting with adhesion, invasion and intracellular survival of *Salmonella enterica enterica in vitro*, since higher frequency of genes with greater pathogenicity could be it is adhesion, invasion and intracellular survival. Keywords: *Salmonella*, Pathogenicity, *In vitro*.

INTRODUCCION

La salmonelosis es una enfermedad zoonótica de amplia distribución mundial causada por bacterias del género *Salmonella* y constituye un grave problema de salud pública. Actualmente se han descrito más de 2,500 serovares de *Salmonella*, existiendo variaciones de tales serovares en función de la región geográfica (Pui *et al.*, 2011). Este microorganismo está ampliamente distribuido en la naturaleza y puede sobrevivir en el ambiente por largos periodos (Abatcha *et al.*, 2014). Las diferentes manifestaciones clínicas de salmonelosis incluye diarrea, abortos, neumonía, artritis séptica, meningitis, gangrena de extremidades

distales entre otras (Morcatti *et al.*, 2015). Los tipos de enfermedades causadas por estos microorganismos dependen tanto de la especie o serovar, así como del hospedero infectado, estando extensamente diseminados en la naturaleza como comensales y como patógenos del aparato digestivo, todas las salmonelas son potencialmente patógenas, al ser bacterias intracelulares, utilizan a los macrófagos en los que se encuentran y se diseminan por el organismo aprovechando la vía linfática y sanguínea (Stanchi, 2007).

Las enfermedades infecciosas conforman uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial, provocando una gran morbilidad y alcanzando niveles de millones de afectados cada año (Quero *et al.*, 2016). El incremento de viajes, cambios demográficos y resistencias a antimicrobianos contribuye significativamente a este fenómeno. En 2015, *Salmonella* spp fue reportada como el segundo agente bacteriano responsable de gastroenteritis en la Unión Europea (EFSA, 2016). Se ha considerado que el consumo de cerdo es una fuente importante de infecciones humanas por *Salmonella* (Bonardi, 2017). Los serovares más comúnmente aislados en cerdos, en Francia son; *Salmonella* Typhimurium y *S. Derby* (Denis *et al.*, 2013; Kerouanton *et al.*, 2013).

La presencia de *Salmonella* en los alimentos obedece a mecanismos de contaminación a través de la cadena de producción de los mismos, que involucra a las carnes, ingredientes como especias y la participación de portadores asintomáticos (Bosilevac *et al.*, 2009).

Para el desarrollo de una enfermedad bacteriana es necesaria la localización de la bacteria en un ambiente adecuado para su establecimiento, replicación y expresión de sus factores de virulencia. Durante el proceso infección se presenta una interacción entre el hospedero-microorganismo. Dentro de los pasos que se presentan en el proceso infeccioso se pueden mencionar: adhesión, invasión, replicación y resistencia a los mecanismos de defensa y daño al hospedero.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En lugares tales como zoológicos y acuarios, se fomenta o permite que el público tenga contacto directo con animales ya que en la actualidad, son áreas para entretenimiento y educación a la población. Sin embargo, son cada vez más comunes las enfermedades entéricas zoonóticas asociadas a estos centros recreativos. Dentro de estas enfermedades zoonóticas figura la salmonelosis. Esto conlleva al uso indiscriminado de antibióticos, provocando así la aparición de cepas multiresistentes de *Salmonella* sp ha dificultado su control en el tratamiento aplicado (Talavara, 2011). El serovar más estudiado, es Typhimurium por ser modelo murino de tifoidea de humano y se desconoce cuál es el comportamiento de otros serovares implicados en problemas de salud en seres humanos. Sabemos que en los albergues anteriormente mencionados localizados en el estado de Sinaloa, se identificaron 17 serovares de *Salmonella enterica enterica* en fauna silvestre, en diferentes zonas a nivel mundial, serovares pertenecientes a *S. enterica enterica* han resultado altamente patógenos provocando muertes por septicemia, cuando anteriormente se creía que era una infección gastroentérica y no sistémica.

El hecho de que exista un frecuente aislamiento de cepas de *Salmonella* que presentan resistencia a uno o varios antimicrobianos a partir de fuentes humanas es considerado como

alarmante y se ha convertido como uno de los más importantes problemas en salud pública. Se han descrito brotes de salmonelosis humana causados por cepas resistentes en varios países del mundo y en varios de estos eventos, el origen de las cepas estuvo asociado con animales domésticos y, en algunos casos, con animales silvestres en cautiverio. Se conoce que algunos serovares de *Salmonella* no tífica han sido los causantes de septicemia neonatal, muchos de ellos teniendo potencial de propagación nosocomial. Recientemente, se le asocio al deceso de una paciente sometida a diálisis continua ambulatoria, con un cuadro de peritonitis, la cual tenía antecedentes de gastroenteritis por *S. Albany* e infección posterior al orificio del catéter, por este bacilo. Estos reportes sugieren un potencial zoonótico, evidenciando la necesidad de ampliar nuestro conocimiento sobre la relación hospedero-bacteria, iniciando con la adhesión, invasión y supervivencia intracelular de la bacteria *Salmonella in vitro* y continuando con las técnicas proteómicas que no solo permiten la identificación de nuevos marcadores, sino que pueden ser implantadas como técnicas de diagnóstico rápido, pronóstico de la enfermedad, además de permitir el desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas y el avance de la vacunología.

HIPOTESIS

A mayor frecuencia de genes de patogenicidad mayor es su adhesión, invasión y supervivencia intracelular en cepas de *Salmonella enterica enterica*

OBJETIVOS GENERAL Y ESPECIFICOS

Objetivo General

- Determinar la patogenicidad in vitro de cepas de *Salmonella enterica enterica* aisladas en fauna silvestre en cautiverio del estado de Sinaloa

Objetivos Específicos

- Determinar la capacidad de adhesión, Invasión y Supervivencia intracelular en el serovar Derby

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparación del Inóculo Bacteriano.

Se tomará una colonia característica de *Salmonella* del medio *Salmonella Shigella* y se crecerá en 5 mL de caldo soya tripticaseína (TSB) durante 24 h. Posteriormente, se transferirá a una alícuota de 10µL de cultivo bacteriano a 5 mL de medio fresco y se incubará a 37°C. Transcurrido ese tiempo se tomará 1 mL de cultivo y se centrifugará a 3,500 rpm por 5 minutos, se decantará el sobrenadante y se realizarán diluciones seriadas para evidenciar la concentración bacteriana del cultivo. Se transferirá una concentración de

aproximadamente 1×10^6 UFC/MI a medio de cultivo celular para los ensayos de adherencia, invasión y supervivencia intracelular.

Línea celular

Se empleará la línea celular epitelial humana Caco-2 (ATCC HTB-37), será mantenida en cultivo en atmósfera húmeda a 37°C y 5% de CO₂ en medio RPMI-10, compuesto por RPMI-1640 (Sigma) suplementado con 10% de suero fetal bovino (Gibco), 50µM de β-mercaptoetanol y 100µg/mL de Gentamicina (Sigma).

Bacterias

Aislados de *Salmonella enterica enterica* obtenido previamente se utilizaran en todos los ensayos (Silva-Hidalgo y cols., 2013). Como bacteria de referencia se utilizó *S. Typhimurium* (ATCC 14028).

Extracción del pDNA

La extracción del DNA plasmídico (Pdna) se llevará a cabo por medio del *kit Fast-n-easy Plasmid Mini- Prep* (Jena Bioscience) siguiendo el protocolo descrito por el fabricante, se tomarán 3 mL de cultivo bacteriano y se centrifugará durante 1 minuto a 14,000 rpm, se resuspenderá el pellet con 300 µL de buffer de lisis con pipeteo y vortex, posteriormente se añadió 300 µL de buffer de neutralización, y se debe mezclar gentilmente, hecho esto se centrifugará a 14,000 rpm por 5 minutos, el color de la mezcla cambia a amarillo brillante (pH 7.5) (si ésta presenta un color naranja o lila indica que el pH es mayor a 7.5 y se debe de ajustar con acetato de sodio 3 M), se colocará la columna dentro del tubo de 2 mL y se añadirá 100 µL del Buffer de Activación en la columna, de nuevo se centrifugará a 14,000 rpm por 30 segundos y se vertirá el sobrenadante (mezcla color amarillo, se centrifugará a 14,000 rpm por 30 segundos se descartará el sobrenadante (se debe quitar de la columna con cuidado) se colocará la columna de unión con el pDNA, en el tubo de 2 mL y se añadirán 500 µL de Buffer de Lavado, una vez realizado esto se centrifugará a 14,000 rpm 30 segundos y se descartará el sobrenadante, se lavará de nuevo con 700 µL del buffer y se centrifugará 2 minutos a 14,000 rpm se colocará la columna de unión en un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se añadirá 30-50 µL de agua inyectable posteriormente se incubará por 1 minuto a temperatura ambiente y finalmente se centrifugará a 14,000 rpm por 1 minuto.

Transformación

La transformación bacteriana con la proteína verde fluorescente (GFP por sus siglas en inglés) se realizará mezclando 5 µL de pDNA con 100 µL de bacterias competentes. La mezcla se incubará en hielo durante 30 minutos y se someterá a choque térmico durante 60 s a 42°C por 1 h en agitación, posteriormente se sembrarán 50- 100µL en TSA- ampicilina (100µg/mL) y se incubarán a 24h a 37°C. Al día siguiente las placas de cultivo se expondrán a la luz UV en un transluminador de UV y se observará el crecimiento de colonias de color verde fluorescente (Huerta y cols., 2003).

Ensayo de Adherencia

El ensayo de adherencia de las cepas, se realizará siguiendo la metodología descrita por Toval y cols., (2014). Brevemente, una suspensión de 1×10^5 células Caco-2 en medio RPMI-1640 sin SFB ni antibiótico, serán colocadas en pozos de placas de 24 pozos (Corning), los cuales contendrán cubreobjetos circulares de 10 mm de diámetro estériles, se incubarán durante 1 h y posteriormente se les añadirá un inóculo bacteriano de 1×10^6 , las interacciones se incubarán durante 1 h. Finalizada la interacción, las células serán lavadas dos veces con amortiguador salino de fosfatos (PBS, pH 7.2), se recolectarán los sobrenadantes y se sembrarán mediante dilución seriada en medio de infusión de cerebro y corazón (BHI, Sigma) y plaqueadas en agar *Salmonella-Shigella* (SS) (Sigma). El número (o el porcentaje) de bacteria adherida se determinará mediante el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) con respecto al inóculo inicial, como se describió previamente Dostal y cols., 2014.

Ensayo de Invasión

Para el ensayo de invasión se procederá de manera similar al de adherencia, pero después de la hora de interacción con la bacteria, el medio de cultivo será reemplazado con RPMI-10, se incubará 1 h a 37°C en atmósfera húmeda y 5% de CO₂ para eliminar la bacteria extracelular. Posteriormente, las interacciones serán lavadas con PBS y lisadas con 1% de Tritón X-100 (IBI Scientific), para liberar la bacteria intracelular. El número de bacterias invasivas se determinará mediante el conteo de UFC como se describió en la sección anterior. La eficiencia de invasión será calculada como el porcentaje de bacteria invasiva entre la bacteria adherida multiplicado por 100.

Tinción celular

El cubreobjetos obtenido tanto de las interacciones celulares de adherencia como de Invasión, serán teñidos con hematoxilina y eosina, siguiendo protocolos estándar, las tinciones serán analizadas en un microscopio óptico (Leica DM750) bajo el objetivo de 100X. Las micrografías serán adquiridas con una cámara de digital de 8.0 megapíxeles.

Análisis Estadístico

El diseño experimental se realizará completamente al azar con 3 réplicas y 2 repeticiones, para los resultados obtenidos en cada uno de los ensayos. Las variables de respuesta serán el porcentaje de adherencia, el porcentaje de invasión y el porcentaje de eficiencia de invasión, las cuales serán analizadas utilizando la Prueba T de Student para la comparación de medias de los grupos. Un valor de $p \leq 0.05$ será considerado como estadísticamente significativo.

LITERATURA CITADA

- Abatcha M., Zakaria, Z., Kaur, D. y Thong, K. 2014. A trends of *Salmonella* and antibiotic resistance. *Advancements in Life Science*. 17: 9-21. ISSN: 2224-7181.
- Bosilevac, J. Arthur, T., Bono, J., Brichta-Harhay, D., Kalchayanand, N. y King, D. 2009. Prevalence and enumeration of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in U. S. abattoirs that process fewer than 1,000 head of cattle per day. *Journal Food Protection*. 72: 1272-8. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.6.1272>

Denis M., Houard, E., Fablet, A., Rouxel, S., Salvat, G. 2013. Distribution of serotypes and genotypes of *Salmonella enterica* species in French pig production. *Veterinary Record*. 173(15), 1-7. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.101901>

Dostal A., Gagnon, M., Chassard, C., Zimmermann, M. B., O'Mahony, L., & Lacroix, C. 2014. *Salmonella* adhesion, invasion and cellular immune responses are differentially affected by iron concentrations in a combined in vitro gut fermentation-cell model. *PLoS One*, 9(3), e93549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093549>

EFSA. 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA Journal*, 14(12), 4634, 1-23. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4634>

Morcatti F., Zambrano, J., Veloso, P., Último, A., Facury, F., Elias, J., Prado, S., Marcus, V., Pereira, A. y Heinemann, M. 2015. Systemic and enteric salmonellosis in calves. *Ciencias Agrarias*. 36(1) pp. 2041-2046. [http://doi: 10.5433/1679-0359.2015v36n3Supl1p2041](http://doi:10.5433/1679-0359.2015v36n3Supl1p2041)

Kerouanton A., Rose, V., Even, M., Houard, E., Denis, M. 2013. Prevalence and genetic diversity of *Salmonella* in organic and conventional pig productions in France. *Proceedings I3S*, Saint-Malo, 279-280. <http://orgprints.org/25149/8/25149.pdf>

Pui C., Wong, W., Chai, L., Tunung, R., Jeyaletchumi, P. y Noor- Hidayah, M. 2011. *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research*. 18: 465- 473. http://www.academia.edu/6968841/Salmonella_A_foodborne_pathogen

Quero S., Párraga, N., García, M. y Sabrià, M. 2016. Proteómica en enfermedades infecciosas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 34: 253-260.

Stanchi O. 2007. *Microbiología Veterinaria*. Primera Edición. Editorial Intermedica. Buenos Aires, República Argentina. 210 – 214 p.

Talavara M., Varela, J.A., Reyes, N.E., Lagunas, S., Valladares, B., Alonso, M.U. y Velázquez, V. 2011. Resistencia antibiótica de genotipos de cepas de *Salmonella* spp de cerdos sacrificados en rastros del Estado de México. *Veterinaria México* 42: 269-276. ISSN: 0301-5092.

IDENTIFICACIÓN, DETERMINACIÓN DE PATOGENICIDAD Y CARACTERIZACIÓN DE OOMYCETES PROVENIENTES DE AGUA SUPERFICIAL DE RÍOS Y CANALES

Josué Cárdenas Rodríguez¹, Moisés Gilberto Yáñez Juárez², Carlos Alfonso López Orona³, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz⁴, Felipe Ayala Tafoya⁴. Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía.

Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). CP 726, km 17.5 Carretera Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa, México.

J.cardenasrodriguez@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Una de las áreas con mayor interés para el ser humano de todas las épocas es la agricultura, pues dependemos de ella para sobrevivir. El avance en la tecnología ha permitido el mejoramiento de los instrumentos agrícolas. En la actualidad México hace competencia hortícola contra países como Canadá, Holanda y España, ofreciendo al mercado de Estados Unidos (EU) productos abrumadoramente cultivados bajo agricultura protegida. Así mismo contra Florida, EU, principal competidor por el mercado estadounidense de hortaliza fresca. La producción de hortalizas bajo invernaderos y malla sombra ha incrementado significativamente en México. En años recientes los principales cultivos hortícolas producidos anualmente a nivel nacional se ubican dentro de las solanáceas y cucurbitáceas. Dentro de las primeras sobresale el tomate (*Solanum lycopersicum*) y el cultivo de chile (*Capsicum annuum*); y dentro de cucurbitáceas resalta el pepino (*Cucumis sativus*) (SIAP, 2018).

En Sinaloa la actividad económica se sustenta principalmente en su agricultura, desde hace cuatro décadas practica la agricultura más tecnificada y moderna del país, su alta productividad le permite participar en los mercados internacionales como exportador de productos frescos de origen hortícola (SIAP, 2015). Sin embargo, existe una limitante por diversos factores bióticos y abióticos, que ocasionan cuantiosas pérdidas que afectan los rendimientos y la calidad de la producción. Actualmente el agua de irrigación no solo es importante para la producción de cualquier cultivo, sino también como una importante fuente de inóculo y dispersión de patógenos. Estudios han demostrado que el agua proveniente de ríos, canales y reservorios contienen una amplia variedad de patógenos de los cuales destacan 17 especies de

Phytophthora y 26 especies de *Pythium*, los cuales representan un riesgo para la producción, causando grandes pérdidas económicas en hortalizas. (Hong y Moorman, 2005).

Una enfermedad puede causar pérdidas económicas debido al daño parcial o total de un

cultivo, implicando fuertes gastos en medidas para disminuir o controlar la enfermedad, poniendo en riesgo la calidad y cantidad de los productos (Desprez y Loustau, 2006). Es por ello que la detección oportuna del agente causal es primordial para optimizar recursos, años atrás la detección de estos patógenos dependía de un alto grado de conocimiento de taxonomía de los microorganismos, asimismo las técnicas empleadas carecían de precisión y eran tardadas. No obstante, ahora existen métodos que permiten una detección de variedades patogénicas, eficaz, precisa, rápida y de bajo costo. La PCR es una tecnología muy potente que permite la identificación específica de patógenos, basándose en los ácidos nucleicos que caracterizan a los organismos y que los diferencia. El ADN está formado por una secuencia de nucleótidos, es decir, son el código de barras o DNI de cada uno de ellos. La PCR usa esta secuencia como método de detección y amplificación de fragmentos que se saben que son específicos para el organismo, especie y gen que se quiera detectar. El objetivo de la técnica, es amplificar y copiar una secuencia concreta para tener la cantidad suficiente que permita su detección (Abad,2008).

PROBLEMA CIENTÍFICO

Los cultivos hortícolas son una fuente importante de alimento, empleo e ingreso económico. La marchitez ocasionada por oomycetes representa un factor limitante para la agricultura, pues su alta capacidad patogénica les permite infectar un amplio rango de hospedantes, a su vez su gran adaptabilidad a diferentes temperaturas, su fácil supervivencia y dispersión en agua o suelo imposibilitan el establecimiento de nuevos cultivos, ocasionando grandes pérdidas económicas en campo y en postcosecha. Previo al presente estudio existe poca información a nivel regional sobre el agua de irrigación como fuente de inóculo y dispersión de patógenos; a su vez la identificación morfológica de oomycetes, apoyado con la introducción de nuevas técnicas de identificación por PCR, actualizará la información existente sobre los géneros y especies reportadas en la región y así gestionar nuevas alternativas para el manejo y control de la enfermedad.

HIPOTESIS

Varios géneros de oomycetes están presentes en agua superficial de ríos y canales en el municipio de Culiacán, y son patogénicas en plantas y frutos de tomate, chile y pepino.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Identificar géneros y especies de oomycetes obtenidos de agua superficial de ríos y canales de irrigación del centro de Sinaloa y evaluar la patogenicidad en plantas y frutos de tomate, chile y pepino.

Objetivos específicos:

- 1) Obtener aislados de oomycetes de agua superficial de ríos y canales del municipio de Culiacán en diversas épocas del año.
- 2) Caracterizar especies de oomycetes con base a la morfometría y técnicas moleculares.
- 3) Determinar la patogenicidad de los aislados provenientes de agua superficial de los ríos y canales de irrigación en plantas y frutos de tomate, chile y pepino.
- 4) Determinar las malezas que sirven como fuente de inóculo y supervivencia de los oomycetes.
- 5) Determinar la sensibilidad de oomycetes al fungicida metalaxil.

MATERIALES Y METODOS.

Colecta de aislados

Los aislados de los oomycetes se obtendrán de ríos, canales y malezas con síntomas de marchitez en el municipio de Culiacán, Sinaloa durante los meses de septiembre de 2018 a marzo de 2019. Estos sitios de muestreo se ubicarán con un dispositivo GPS y serán seleccionados por la importancia agrícola a sus alrededores. Frutos de pera se colocarán en una bolsa elaborada con tela de polipropileno de 30 x 30 cm. Se colocarán piezas de poliestireno para propiciar que las peras permanezcan en la superficie del agua; el extremo superior de la bolsa será sellado con cuerda del mismo material; la misma cuerda permitirá atar la trampa a un arvense en el talud del río y/o canal. Las trampas permanecerán en la superficie de los sitios de muestreo por 48 horas, periodo después del cual las trampas con las peras en su interior se colectarán para ser transportadas al laboratorio. La temperatura del agua a 10 cm de profundidad se determinará mediante un termómetro de mercurio al colocar y retirar las trampas de los sitios de muestreo. Los frutos de pera sometidos a flotación en el agua superficial se lavarán con agua corriente y se incubarán a temperatura ambiente. Para el aislamiento de los oomycetes se seleccionarán lesiones acuosas y firmes de color café claro oscuro sobre los frutos y las lesiones color café sobre los frutos. Las lesiones se frotarán con alcohol al 70% durante 30 segundos y del margen de las mismas se cortarán fragmentos de 0.5 x 0.5 cm los cuales se sembrarán en un medio semiselectivo. Las cajas de Petri se incubarán durante 48 horas a 25 °C; del margen de las colonias miceliales se cortarán pequeños fragmentos los cuales se transferirán a medio de cultivo a base de harían de maíz agar (Corn Meal Agar por sus siglas en ingles CMA). Después de 48 horas de incubación las colonias se transferirán a V8-agar, y a su vez cortes de medio V8-agar serán transferidos a tubos de cristal con el mismo medio, una vez que el patógeno colonice el medio, se le añadirán 7 ml de aceite mineral estéril y serán incubados a 23 °C para su conservación (Erwin y Riveiro, 1996)

Morfometría y técnicas moleculares

Para la determinación de las características fenotípicas de los aislados de oomycetes, se utilizarán los medios de cultivo: PDA, V8A y CMA. Fragmentos de medios de cultivo de 0.5 cm de diámetro con crecimiento activo de los aislados se transferirán a los medios antes mencionados, los aislamientos se incubarán por 7 días a 26 ± 2 °C. Enseguida se determinará la morfología colonial de los aislados por medio de claves fitopatológicas. Para la determinación de las características morfológicas y dimensiones (largo, ancho y relación largo/ancho) de esporangios de los aislados de oomycetes, se cortarán fragmentos de 0.5 cm de diámetro de medio de cultivo V8A con crecimiento micelial del margen de las colonias del oomycete. Cinco fragmentos con el pseudohongo se colocaron en cada caja de Petri de 5 cm de diámetro con cinco ml de extracto de suelo al 1.5% y las cajas de Petri se incubarán a 21 °C en oscuridad durante 8 a 24 horas. A su vez se determinará la presencia de hinchamientos del micelio, tipo de esporangióforo, esporangios, dimensión de los esporangios, su forma y la caducidad de los esporangios. Para el tipo de compatibilidad sexual A1 o A2, se elaborará un medio de cultivo V8A clarificado, adicionado con sitosterol y triptófano para la estimulación de la formación de gametangios sexuales con especies compatibles.

Para la identificación de las especies del oomycetes a nivel molecular, se realizará la extracción de ácidos nucleicos con el método CTAB modificado y nitrógeno líquido, una vez extraído del ADN se realizarán pruebas por PCR, donde se recurrirá a los siguientes oligonucleótidos los cuales amplifican los genes que codifica NADH, COX2 y la región ITS 4-6 (Kroon *et al.*, 2004), a su vez se realizarán electroforesis para observar los fragmentos amplificados y las muestras serán enviadas a MACROGEN Corea para su posterior secuenciación e identificación. Para el análisis filogenético se utilizará el modelo de parsimonia máxima (MP) a través de una búsqueda heurística se determinarán los valores de confianza con 1000 repeticiones (bootstraps) y se utilizarán secuencias de referencia representativas de *Pythium aphanidermatum* y *Phytophthora capsici* como grupo externo (outgroup) para enraizar el árbol filogenético (Abad, 2014)

Pruebas de patogenicidad en plantas y frutos de tomate, chile y pepino.

Para las pruebas en plantas se utilizarán cuatro repeticiones de cada cultivo y se realizarán lesiones a las raíces de las plantas para producir la infección rápida del patógeno, y se le añadirán cortes de medio de cultivo colonizado con el patógeno. Un día después de la inoculación, las plantas se someterán a inundación con agua corriente durante 24 horas. Enseguida las plantas se drenarán y se colocarán sobre bancales del invernadero y a los 3 días después de la inoculación se determinará el daño por el patógeno en las plantas recurriendo a la escala visual, donde 0= no síntomas, 1= marchitez ligera o daño ligero en tallo, 2= marchitez severa o daño severo en tallo y 3= muerte de planta (Rodríguez *et al.*, 2010). Frutos de tomate, chile y pepino de las variedades empleadas en estudios de patogenicidad en planta se colocarán en recipientes plásticos de 10 Lts de capacidad. A los recipientes se les añadirán cortes de medio de cultivo sobre el agua, se colocarán tres frutos

de tomate, chile y pepino; y se mantendrán en flotación durante 48 horas. Enseguida los frutos se colocarán sobre la mesa del invernadero donde permanecerán 48 horas a 24 ± 2 °C. La severidad de la enfermedad en los frutos se determinará con base a la superficie (cm^2) dañada (Zadoks & Schein, 1979) en los tres tipos de frutos inoculados por los diferentes aislados del oomycete. El análisis estadístico en frutos y plantas se llevará a cabo con el software SAS (Statistical Analysis System), en el cual se realizará una prueba no paramétrica con el modelo de Kruskal-Wallis con cuatro repeticiones en plantas y para los frutos se realizará un ANDEVA, con sus respectivos controles para observar diferencias significativas ($P > 0.05$). Para que una enfermedad sea considerada transmisible debe cumplir requisitos. Estos requisitos fueron propuestos por Robert Koch basados en algunos experimentos, los cuales serán aplicados en este estudio y están enunciados de la siguiente manera:

- a) El microorganismo debe estar presente en todos los individuos con la misma enfermedad.
- b) El microorganismo debe ser recuperado del individuo enfermo y poder ser aislado en medio de cultivo.
- c) El microorganismo proveniente de ese cultivo debe causar la misma enfermedad cuando se inocula a otro huésped.
- d) El individuo experimentalmente infectado debe contener el microorganismo.

Hospedantes alternos

Para la búsqueda de hospedantes alternos de oomycetes, se procederá a buscar plantas con síntomas de marchitez, canchales, pudrición de raíces y tallos; estas plantas están situadas en el talud de ríos o canales, en las periferias de las zonas de muestreo o a su vez están suspendidas en el agua. Se realizará el mismo procedimiento descrito para la colecta de aislados en las lesiones de los frutos de peras (Desprez y Loustau, 2006). Se realizará el mismo procedimiento descrito anteriormente para los postulados de Koch.

Sensibilidad a Metalaxil

La sensibilidad al fungicida se determinará en base a ensayos de inhibición del crecimiento micelial de los aislados, se probará la acción de un fungicida del grupo de acilalanina anilida. Se prepararán diferentes concentraciones del fungicida (1,2,3,4 y 5 ppm) a probar con agua destilada estéril y se agregarán al medio de cultivo CMA después de la esterilización para obtener una concentración basada en el ingrediente activo y las recomendaciones del fabricante. Cajas Petri sin fungicida servirán como testigo. Todas las cajas con medio CMA con fungicida se prepararán 24 h antes de usarlas en la prueba. Del margen con crecimiento activo de una colonia de dos días de edad se tomarán discos miceliales y se colocarán en el centro de las cajas Petri con medio CMA y fungicida en cada una de las concentraciones

señaladas anteriormente. Las cajas se incubarán durante ocho días a temperatura ambiente en oscuridad continua. Para cada aislado, se usarán tres repeticiones por concentración. El diámetro de la colonia de cada caja Petri se medirá perpendicularmente en dos direcciones y se promediará. El diámetro del disco de agar se restará del diámetro de la colonia antes de realizar el análisis de datos. El experimento se realizará dos veces. Para cada aislado, se calculará la concentración efectiva que inhibe 50% del crecimiento micelial (CE_{50}) mediante una regresión lineal del porcentaje de inhibición relacionado con el crecimiento micelial del testigo contra la transformación del \log_{10} , para cada una de las concentraciones usadas usando el sistema SAS se verificará que no haya diferencias significativas ($P>0.05$) entre las repeticiones de experimento (Shattock, 2018)

LITERATURA CITADA

Abad G. (2008). Methods for identification of *Phytophthora* species Plant Pathology, 41. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-12-11-1036-FE>

Hong C., Gallegly, M. E., Richardson P. A., Kong P., Moorman G. W. (2008). *Phytophthora irrigata*, a new species isolated from irrigation reservoirs and rivers in Eastern United States of America. FEMS Microbiology Letters, 285(2), 203–211. <http://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01226.x>

Taylor P., Hong C. X., Moorman G. W. (2014) Critical Reviews in Plant Sciences Plant Pathogens in Irrigation Water: Challenges and Opportunities Plant Pathogens in Irrigation Water: Challenges, 37–41. <http://doi.org/10.1080/07352680591005838>

Oudemans P. V. (1999). *Phytophthora* species associated with cranberry root rot and surface irrigation water in New Jersey. Plant Disease, 83, 251–258. <http://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.3.251>

SIAP-SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2018. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/ (consulta, febrero 2019).

Shattock R.C. (1986) Inheritance of metalaxyl resistance in the potato late-blight fungus. In: Proceedings 1986 British Crop Protection Conference Pests and Diseases. pp: 555-560.

Shattock R.C, Tooley P.W. & Fry W.E. (1986) Genetics of *Phytophthora infestans*: characterization of single-oospore cultures from AI isolates induced to self by intra-specific stimulation. *Phytopathology* 76. pp: 407-410.

Shattock R.C., Tooley P.W., Fry W.E. (1986) Genetics of *Phytophthora infestans*: determination of recombination, segregation, and selfing by isozyme analysis. *Phytopathology* 76. pp: 410-413.

Shattock R.C, Tooley P.W., Sweigard J. & Fry W.E. (1987) Genetic studies of *Phytophthora infestans*. In: *Genetics and Plant Pathogenesis*. pp: 175-185.

BÚSQUEDA DE RESISTENCIA A *Anthonomus eugenii* EN GENOTIPOS SILVESTRES Y CRIOLLOS DE *Capsicum* spp.

Walter Arturo Rubio-Aragón^{1*}, Carlos Alfonso López-Orona², Jesús Enrique Retes-Manjarrez³, Miguel López-Meza², Jacobo Enrique Cruz-Ortega², Fabián Avendaño-Meza²

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias, adscrito a la Facultad de Agronomía.

*walter_rubio30@hotmail.com.

²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Carretera Culiacán-Eldorado km. 17.5, C. P. 80000. Culiacán, Sinaloa, México.

³Universidad Tecnológica de Culiacán, Carretera Culiacán-Imala km. 2, C. P. 80014, Culiacán, Sinaloa, México.

Resumen

Se efectuaron dos ensayos en una cámara bio-climática con el objetivo de buscar resistencia a *Anthonomus eugenii* en 22 poblaciones silvestres y criollas de *Capsicum*. El primer ensayo se hizo infestando hojas de ocho plantas individualmente de cada población con cinco *A. eugenii* en micro-jaulas. Las poblaciones UTC9, UTC2, UTC13, UTC17, UTC5, UTC21, UTC11, UTC22, UTC18, UTC19, UTC16 y UTC3 mostraron significativamente el menor número de marcas por alimentación en hojas. En una escala del 1-9, únicamente la población UTC9 mostró significativamente el menor daño que el resto de los genotipos. Los genotipos 13 y 2 tuvieron significativamente el mayor número de insectos muertos 48 horas post-infestación (hpi), indicando que estos genotipos cuentan con algún mecanismo de antibiosis. El segundo ensayo se hizo con la infestación de cinco adultos en frutos de ocho plantas individualmente de cada población en micro-jaulas. Los genotipos UTC11, UTC2, UTC1, UTC6, UTC4, UTC8, UTC10, UTC19, UTC21, UTC17, UTC15, UTC12, UTC22, UTC14, UTC7, UTC3, UTC16, UTC5, UTC13 y UTC9 mostraron significativamente el menor número de marcas por alimentación en frutos, y los genotipos UTC4, UTC14, UTC7, UTC13, UTC1 y UTC18 tuvieron significativamente el mayor número de insectos muertos 48 hpi, indicando que estos genotipos cuentan con algún mecanismo de antibiosis. Todas las poblaciones mostraron significativamente menor número de insectos emergidos de frutos infestados 20 días post-infestación en comparación con los cultivares comerciales, indicando que estos genotipos pueden reducir la incidencia de este insecto en campos comerciales de Chile.

Palabras Claves: Picudo del Chile, resistencia vegetal, antibiosis, *Capsicum annuum*, escrutinio.

ABSTRACT

Two assays were conducted in a climatic chamber with the objective to search for resistance to *Anthonomus eugenii* in 22 wild and landrace populations of *Capsicum*. The first assay was made by infesting two leaves of eight plants individually of each population with five *A. eugenii* inside micro cages. Populations UTC9, UTC2, UTC13, UTC17, UTC5, UTC21,

UTC11, UTC22, UTC18, UTC19, UTC16 and UTC3 showed significantly the lowest number of feeding punctures per leaf. Basing on a scale from 1 to 9, only the population 9 showed significantly a lower level of damage than the rest of genotypes. Genotypes UTC13 and UTC2 had significantly the highest number of death insects 48 hours after infestation (hai), indicating that these genotypes count on with some antibiosis mechanism. The second assay was made with the infestation of five adults in individual fruits of each of the eight plants in each population inside micro cages. Genotypes UTC11, UTC2, UTC1, UTC6, UTC4, UTC8, UTC10, UTC19, UTC21, UTC17, UTC15, UTC12, UTC22, UTC14, UTC7, UTC3, UTC16, UTC5, UTC13 and UTC9 showed significantly the lowest number of feeding punctures in fruits, and genotypes UTC4, UTC14, UTC7, UTC13, UTC1 and UTC18 had significantly the highest number of death insects 48 hai, indicating that these genotypes count on with some antibiosis mechanism. Every population showed significantly a lower number of emerged insects from infested fruits 20 days after infestation than comercial cultivars, indicating that these genotypes may reduce *A. eugenii* incidence in pepper comercial fields.

Keywords: Pepper weevil, plant resistance, antibiosis, *Capsicum annum*, screening.

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo del chile es uno de los más importantes económicamente. En el año 2017 se sembraron 161, 285 ha de chile verde, de las cuales se obtuvo una producción aproximada de 3'296,874 t con un valor económico estimado en 29 mil 125 millones de pesos (SIAP, 2018). Este cultivo cuenta con diversas limitantes y una de la más importantes a nivel nacional es *Anthonomus eugenii* Cano, comúnmente conocido como picudo, barrenillo o gorgojo del chile, el cual ataca tanto chiles picosos como dulces. El picudo del chile está presente en las zonas más importantes de este cultivo en el Centro y Norte de América (Patrock and Schuster, 1992; Toapanta *et al.*, 2005; Rodríguez-Leyva *et al.*, 2012; Adesso *et al.*, 2014). De acuerdo con Speranza *et al.* (2014) el insecto también se ha establecido en la región del Mediterráneo. Los daños causados por este insecto se deben principalmente por alimentación y oviposición durante las etapas de floración y fructificación (Toapanta *et al.*, 2005). Las pérdidas ocasionadas por el insecto pueden llegar a ser hasta del 100% de la producción (Cortez-Mondaca, 2008). Rodríguez-Leyva *et al.* (2012) estiman que a nivel nacional la pérdida económica debido a este insecto es de 70 a 80 millones de dólares estadounidenses al año. El uso de insecticidas químicos convencionales es la práctica más común para su combate; lo anterior genera una presión de selección sobre la plaga provocando problemas de resistencia (Avendaño-Meza *et al.*, 2016). Debido a estos factores es extremadamente necesario evaluar alternativas de control más sostenibles, y que sean compatibles con el Manejo Integrado de Plagas (MIP) (Baldin *et al.*, 2017). La elección del cultivar de chile adecuado es importante en el control cultural en un programa de MIP diseñado al combate de *A. eugenii* (Seal y Martin, 2016). El uso de genotipos resistentes es una herramienta valiosa, haciendo posible la reducción de las poblaciones de plagas por debajo del umbral económico, sin afectar al medio ambiente, además, permite al cultivo ser más redituable para el productor (Baldin *et al.*, 2017). Pérez-Castañeda *et al.* (2015) sugieren que el mejoramiento genético se constituye como una alternativa viable y económica para resolver los problemas de producción del chile que tienen impacto en la economía de México

y el mundo. Pickersgill (1997) menciona que los parientes silvestres y/o domesticados de las plantas cultivadas son fuente de genes de resistencia a plagas y enfermedades y que el primer paso para generar cultivares resistentes es realizar un escrutinio en dichos recursos genéticos. Existen pocos estudios sobre resistencia genética en *Capsicum* spp. al picudo del chile. Berdegue *et al.* (1994), Seal and Bondary (1999) y Berny-Mier y Teran *et al.* (2013) buscaron resistencia a este insecto en diferentes especies de *Capsicum* y tipologías dentro de éstas sin éxito alguno. Además, es conocido que no existen cultivares resistentes a este insecto, por tanto, es sumamente importante continuar explorando los recursos genéticos del chile para la búsqueda de resistencia que puedan contribuir a un manejo sostenible hacia el insecto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Anthonomus eugenii es una de las principales limitantes en el cultivo del chile en Centro América, el Caribe, Sur de Estados Unidos y México (Addesso *et al.*, 2014). Speranza *et al.* (2014) reportan el reciente establecimiento del insecto en la región del Mediterráneo. Los daños ocasionados por el picudo del chile en campos comerciales en ausencia de un control adecuado pueden ser hasta del 100% (Cortez-Mondaca, 2008). Rodríguez-Leyva *et al.* (2012) calculan en México que la pérdida económica por esta plaga asciende a los 70-80 millones de dólares anuales. El control de este insecto plaga se ha basado principalmente en el uso intensivo de agroquímicos, lo que ha provocado problemas de contaminación ambiental, menor rentabilidad del cultivo y un aumento en la resistencia de los insectos a los pesticidas (Avendaño-Meza *et al.*, 2016). Con base en lo anterior cualquier estudio que aporte herramientas más sostenibles de control y que sean compatibles con el manejo integrado de este insecto serán bien recibidas por los técnicos y productores de este cultivo.

HIPÓTESIS

Existen genotipos silvestres y criollos de *Capsicum* spp. resistentes a *Anthonomus eugenii*.

OBJETIVO GENERAL

Identificar fuentes de resistencia en genotipos silvestres y criollos de *Capsicum* spp. para *Anthonomus eugenii*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Desarrollar un método de infestación de *Anthonomus eugenii* en frutos y hojas de *Capsicum* spp.
- 2.- Analizar la resistencia de los genotipos criollos y silvestres a *Anthonomus eugenii* en frutos y hojas de *Capsicum* spp.
- 3.- Conservar las accesiones que muestren algún grado de resistencia a *Anthonomus eugenii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron frutos de 10 plantas de 13 poblaciones silvestres y 9 criollas durante la temporada primavera verano del año 2016 en los estados de Yucatán, Campeche, Tabasco y Chiapas (Cuadro 1). Los cultivares comerciales Yolo Wonder y Lamu fueron utilizados como controles por su alta susceptibilidad a *A. eugenii*.

Cuadro 1.- Listado de genotipos de chile utilizados en el ensayo de resistencia a *Anthonomus eugenii*.

Genotipo	Especie	Tipología	Genealogía
1	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
2	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
3	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
4	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
5	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
6	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
14	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
15	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
16	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
17	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
19	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
21	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
22	<i>Capsicum annuum</i>	Chiltepín	Población silvestre
7	<i>Capsicum annuum</i>	Pico Paloma	Cultivar criollo
8	<i>Capsicum annuum</i>	Pico Paloma	Cultivar criollo
9	<i>Capsicum annuum</i>	Jalapeño	Cultivar criollo
18	<i>Capsicum annuum</i>	Serrano	Cultivar criollo
10	<i>Capsicum chinense</i>	Habanero	Cultivar criollo

12	<i>Capsicum chinense</i>	Habanero	Cultivar criollo
13	<i>Capsicum chinense</i>	Habanero	Cultivar criollo
11	<i>Capsicum frutescens</i>	Tabasco	Cultivar criollo
20	<i>Capsicum pubescens</i>	Manzano	Cultivar criollo
23	<i>Capsicum annuum</i>	Morrón	Cultivar comercial F1
24	<i>Capsicum annuum</i>	Lamuyo	Cultivar comercial F1

Ensayos de resistencia

En este estudio se hicieron dos ensayos para analizar la resistencia tipo antibiosis de 22 genotipos silvestres y criollos a *A. eugenii*. Ambos ensayos se desarrollaron bajo condiciones controladas en una cámara de crecimiento con un promedio de temperatura de 28 ± 2 °C, una humedad relativa promedio de $60\% \pm 2\%$ y un fotoperiodo de 12:12 horas luz y oscuridad, respectivamente, en la empresa FitoCiencia ubicada en la comunidad de Culiacancito, Culiacán, Sinaloa durante la temporada primavera-verano del año 2018.

El primer ensayo se hizo en mayo de 2018 y éste se basó en la exposición de insectos en una forma de no libre elección en hojas de las ocho plantas utilizadas en este ensayo. Insectos adultos fueron colectados individualmente de plantas de chile tipo morrón a través de succionadores entomológicos y se infestaron directamente en micro jaulas entomológicas 16 hojas (de la parte superior de la planta con una longitud de alrededor de 2.5 cm) de cada uno de los 22 genotipos con cinco especímenes de *A. eugenii* a los 90 días después de la siembra. Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho repeticiones donde cada dos hojas fueron consideradas una repetición.

Para analizar la antibiosis de las hojas sobre los insectos, se contabilizó el número de insectos muertos, el número de marcas por alimentación y el daño ocasionado por el insecto con base en una escala visual del 1 al 9, donde: 1 = hoja con 0% de daño; 3 = hoja con aproximadamente 25% de daño; 5 = hoja con aproximadamente 50% de daño; 7 = hoja con aproximadamente 75% de daño y 9 = hoja con aproximadamente 100% de daño. Las lecturas se tomaron a las 48 horas después de la infestación.

El segundo ensayo se llevó a cabo en junio de 2018 y a diferencia del primer ensayo éste se basó en la exposición de insectos en una forma de no libre elección en frutos de cada una de las plantas utilizadas en este experimento.

Para este ensayo, se utilizaron las mismas plantas, método de infestación y diseño experimental que el experimento anterior donde cada fruto fue considerado una repetición. Para analizar este tipo de resistencia por antibiosis, se contabilizó el número de insectos muertos y número de marcas por alimentación 48 horas después de la infestación. Por

último, el número de insectos emergidos por fruto se contabilizó a los 20 días post infestación.

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza no paramétrico con la prueba de Kruskal-Wallis y la de medianas de Mood ($p \leq 0.05$). Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el programa computacional Minitab 17.

RESULTADOS

Ensayo de resistencia en hojas de chile

Todos los genotipos mostraron insectos muertos, aunque el grado de mortalidad varió entre tratamientos 48 horas después de la infestación (dpi) ($H = 73.56$; $gl = 23$; $p \leq 0.001$) (Cuadro 2). El genotipo 13 tuvo significativamente el mayor número de insectos muertos (NIM) en comparación con el resto de los tratamientos con un valor promedio de 2.3. Por otra parte, la accesión 2 mostró significativamente un mayor NIM con una media de 1.5 en comparación con los controles comerciales, aunque no con la mayoría de los genotipos (Cuadro 2). El resto de las accesiones tuvieron un valor medio de insectos muertos con alrededor de 0.3 los cuales no mostraron diferencia significativa con los controles susceptibles cuya media fue de 0.2.

Respecto al número de marcas por alimentación (NMA), todos los genotipos mostraron este tipo de daño, sin embargo, hubo diferencia significativa entre tratamientos 48 horas dpi para esta variable ($H = 91.62$; $gl = 23$; $p \leq 0.001$) (Cuadro 2). Las accesiones 9, 2, 13, 17, 5, 21, 11, 22, 18, 19, 16 y 3 mostraron significativamente el menor NMA con medias de 9.3, 9.5, 12.0, 16.5, 22.0, 22.8, 26.5, 25.7, 25.8, 25.8, 26.0 y 29.33 marcas por hoja, respectivamente (Cuadro 2). Por otra parte, la accesión 7 mostró significativamente un menor nivel de daño con un valor medio de 30.7 en comparación con los cultivares susceptibles (Cuadro 2). El resto de las accesiones tuvieron un NMA promedio de alrededor de 35.8 el cual no fue significativamente diferente de los controles susceptibles que tuvieron un valor medio de 51.7.

La mayoría de los genotipos mostraron un fuerte daño por alimentación, sin embargo, hubo diferencia estadística entre tratamientos ($H = 40.47$ $gl = 23$ $p = 0.014$). El genotipo 9 fue el único que tuvo significativamente un menor nivel de daño por alimentación con un valor promedio de 2.0 en comparación con los controles susceptibles que tuvieron un promedio de 5.0 de acuerdo con la escala descrita anteriormente (Cuadro 2). El resto de las accesiones no fueron significativamente diferentes con los controles susceptibles con un valor promedio de alrededor de 4.0.

Cuadro 2.- Resultados del ensayo de no libre elección en hojas de 24 genotipos de *Capsicum* spp., 48 horas después de infestación con *Anthonomus eugenii*. NIM: número de insectos muertos, NMA: número de marcas por alimentación, EDA: escala de daño por alimentación.

Genotipo	NIM	NMA	EDA	Genotipo	NIM	NMA	EDA
13	2.3 a	12.0 h	2.7 ab	21	0.3 bc	22.8 efgh	4.7 a
2	1.5 ab	9.5 h	2.7 ab	14	0.3 bc	31.3 bcdefg	3.7 ab
9	1.0 bc	9.3 h	2.0 b	17	0.3 bc	16.5 gh	3.7 ab
7	0.5 bc	30.6 cdefg	3.7 ab	16	0.3 bc	26.0 defgh	4.0 ab
4	0.3 bc	33.0 bcdef	4.7 a	22	0.3 bc	25.7 efgh	4.0 ab
6	0.3 bc	46.3 abc	4.7 a	3	0.2 c	29.3 defgh	4.3 ab
11	0.3 bc	26.5 defgh	4.0 ab	19	0.2 c	25.8 defgh	4.3 ab
8	0.3 bc	31.5 bcdef	4.3 ab	12	0.2 c	33.5 bcdef	4.3 ab
1	0.3 bc	44.1 abcd	4.0 ab	5	0.2 c	22.0 fgh	3.0 ab
10	0.3 bc	37.5 bcde	4.7 a	18	0.2 c	25.8 defgh	4.0 ab
15	0.3 bc	31.1 bcdefg	5.0 a	24	0.2 c	49.5 ab	5.0 a
20	0.3 bc	33.6 bcdef	4.3 ab	23	0.2 c	53.8 a	5.0 a

Ensayo de resistencia en frutos de chile

La mayoría de los genotipos tuvieron un alto número de insectos muertos (NIM), aunque el grado de mortalidad varió significativamente entre las accesiones 48 dpi ($H= 106.56$; $gl = 23$ $p \leq 0.001$) (Cuadro 3). Las accesiones 4, 14, 7, 13, 1 y 18 mostraron significativamente el mayor NIM con medias de 5.0, 4.7, 4.5, 4.3, 4.0 y 4.0, seguido de las accesiones 19, 9, 11, 8, 22, 20, 6, 16, 3, 2, 12, 10 y 5 con valores promedio de 3.8, 3.8, 3.7, 3.5, 3.5, 3.3, 3.3, 3.3, 2.8, 2.8, 2.8, 2.7 y 2.3, respectivamente, en comparación con los cultivares comerciales (Cuadro 3). El resto de las acciones (21, 15 y 17) tuvieron un NIM promedio de 1.3 el cual no fue significativamente diferentes de los controles susceptibles que tuvieron valor promedio de 0.8.

Todos los genotipos presentaron daños por alimentación en frutos, sin embargo, hubo diferencia significativa entre tratamientos 48 dpi ($H = 102.29$; $gl = 23$ y $p \leq 0.001$) (Cuadro 3). Los genotipos 11, 2, 1, 6, 4, 8, 10, 19, 21, 17, 15, 12, 22, 14, 7, 3, 16, 5, 13 y 9 mostraron el menor número de marcas por alimentación con medias de 7.3, 8.0, 8.3, 9.0, 10.2, 11.0, 11.0, 12.7, 13.8, 15.3, 15.5, 16.5, 16.7, 19.2, 19.8, 21.7, 23.2, 25.3, 28.3 y 29.5, seguido de las accesiones 20 y 18 con valores promedio de 33.7 y 34.3, respectivamente, en comparación con los cultivares comerciales que tuvieron un valor promedio de 65.5 (Cuadro 3).

Cuadro 3.- Resultados del ensayo de no libre elección en frutos de 24 genotipos de *Capsicum* spp., 48 horas después de infestación con *Anthonomus eugenii*. NIM: número de insectos muertos, NMA: número de marcas por alimentación y NIE: número de insectos emergidos.

Genotipo	NIM	NMA	NIE	Genotipo	NIM	NMA	NIE
4	5.0 a	10.2 d	0.2 b	6	3.3 cdef	9.0 d	0.0 b
14	4.7ab	19.2 bcd	0.0 b	16	3.3 cdef	23.2 bcd	0.0 b
7	4.5 abc	19.8 bcd	0.0 b	3	2.8 dfe	21.7 bcd	0.0 b
13	4.3 abc	28.3 bcd	0.0 b	2	2.8 dfe	8.0 d	0.0 b
1	4.0 abcd	8.3 d	0.0 b	12	2.8 dfe	16.5 bcd	0.0 b
18	4.0 abcd	34.3 b	0.0 b	10	2.7 fg	11.0 cd	0.0 b
19	3.8 bcde	12.7 bcd	0.0 b	5	2.3 fg	25.3 bcd	0.0 b
9	3.8 bcde	29.5 bcd	0.0 b	21	1.5 gh	13.8 bcd	0.0 b
11	3.7 bcde	7.3 d	0.0 b	15	1.5 gh	15.5 bcd	0.0 b
8	3.5 bcdef	11.0 bcd	0.0 b	17	0.8 h	15.3 bcd	0.0 b
22	3.5 bcdef	16.7 bcd	0.0 b	23	0.8 h	66.5 a	2.2 a
20	3.3 cdef	33.7 bc	0.0 b	24	0.8 h	64.5 a	2.3 a

CONCLUSIONES

Se encontró que las poblaciones UTC13 y UTC2 fueron resistentes al picudo del chile en el ensayo de hojas porque mostraron diferencia significativa en comparación con los cultivares comerciales.

Se identificó que las poblaciones UTC4, UTC14, UTC7, UTC13, UTC1, UTC18, UTC19, UTC11, UTC8, UTC22, UTC20, UTC6, UTC16, UTC3, UTC2, UTC12 y UTC5 fueron resistentes al picudo del chile en el ensayo de frutos porque mostraron diferencia significativa en comparación con los cultivares comerciales.

Se encontró que todas las poblaciones tuvieron significativamente menor número de adultos emergidos de los frutos infestados en el segundo ensayo en comparación con los cultivares comerciales.

El método para seleccionar genotipos resistentes a Picudo en el primer (hojas) y segundo (frutos) ensayo fue adecuado porque los controles susceptibles funcionaron correctamente al igual que el control negativo (hojas y frutos no infestados).

Este método y los genotipos que mostraron resistencia en los ensayos uno y dos pueden ser utilizados en programas de mejoramiento genético.

LITERATURA CITADA

Addesso K. M., Stansly P. A., Kostyk B. C., McAuslane H. J. 2014. Organic treatments for control of pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). Fla. Entomol. 97(3):1148-1156. DOI: [10.1653/024.097.0322](https://doi.org/10.1653/024.097.0322)

Avendaño-Meza F., Corrales-Madrid J. L., Parra-Terraza S., Medina-López R., Gaspar-Aguilar S. S., Avendaño-Jatomea F. D. 2016. Líneas base de susceptibilidad a tres insecticidas en poblaciones de picudos del chile *Anthonomus eugenii* Cano, 1894 (Coleoptera: Curculionidae) del estado de Sinaloa. Entomología Mexicana 3:775-780. ISSN: 2448-475X

https://www.researchgate.net/profile/Fabian_Avendano_Meza/publication/311559491_LINEA_S_BASE_DE_SUSCEPTIBILIDAD_A_TRES_INSECTICIDAS_EN_POBLACIONES_DE_PICUDOS_DEL_CHILE_Anthonomus_eugenii_Cano_1894_COLEOPERA_CURCULIONIDAE_DEL_ESTADO_DE_SINALOA/links/584cb17008aeb989251f78a1/LINEAS-BASE-DE-SUSCEPTIBILIDAD-A-TRES-INSECTICIDAS-EN-POBLACIONES-DE-PICUDOS-DEL-CHILE-Anthonomus-eugenii-Cano-1894-COLEOPERA-CURCULIONIDAE-DEL-ESTADO-DE-SINALOA.pdf

Baldin E. L. L. Cruz P. L., Morando R., Silva I. F., Bentivenha J. P. F., Tozin L. R. S., Rodrigues T. M. 2017. Characterization of antixenosis in soybean genotypes to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B. J. Econ. Entomol. 0(0):1-8 DOI: [10.1093/jee/tox143](https://doi.org/10.1093/jee/tox143)

Berdegue M., Harris M. K., Riley D. W., Villalon B. 1994. Host plant resistance on pepper to the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano. Southwest. Entomol. 19(3):265-271. ISSN: [0147-1724](https://doi.org/10.1093/ee/19.3.265) <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19951102121>

Berny-Mier y Teran J. C., Abdala-Roberts L., Durán-Yáñez A., Tut-Pech F. 2013. Variation in insect pest and virus resistance habanero peppers (*Capsicum chinense* Jacq.) in Yucatán México. Agrocencia 47(5):471-482. ISSN: 1405-3195 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30228267005>

Cortez-Mondaca E. 2008. Picudo del chile *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae). pp: 127–135. En: casos de control biológico en México. Arredondo-Bernal H. C. y Rodríguez-del Bosque L. A. (Eds.). Editorial Mundi Prensa. México 423 p. ISBN: 9789687462653

Patrock R. J., Schuster D. J. 1992. Feeding, oviposition and development of the pepper weevil, (*Anthonomus eugenii* Cano), on selected species of Solanaceae. Trop. Pest. Manage. 38(1): 65-69. DOI: [10.1080/09670879209371648](https://doi.org/10.1080/09670879209371648)

Pickersgill B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96: 129-133. ISSN: 1573-5060 DOI: [10.1023/A:1002913228101](https://doi.org/10.1023/A:1002913228101)

Peréz-Castañeda L. M., Castañón-Nájera G., Ramírez-Meraz M., Mayek-Pérez N. 2015. Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum*

- spp. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 2(4):117-128. ISSN: 2007-9028
<https://www.redalyc.org/pdf/3586/358636340009.pdf>
- Rodríguez-Leyva E., Lomeli-Flores J. R., Valdez-Carrasco J. M., Jones R. W., Stansly P. A. 2012. New Records of species and locations of parasitoids of the pepper weevil in Mexico. Southwest. Entomol. 37(1):73-83. DOI: [10.3958/059.037.0109](https://doi.org/10.3958/059.037.0109)
- Seal D. R., Bondari K. 1999. Evaluation of various cultivars of pepper for resistance against pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae). Proc. Fla. State Hort. Soc. 112:342-345. ISSN: 0886-7283 [https://fshs.org/proceedings-o/1999-vol-112/342-345%20\(SEAL\).pdf](https://fshs.org/proceedings-o/1999-vol-112/342-345%20(SEAL).pdf)
- Seal D. R., Martin C. G. 2016. Pepper weevil (Coleoptera: Curculionidae) preferences for specific pepper cultivars, plant parts, fruit colors, fruit sizes, and timing. Insects 7(1):9. DOI: [10.3390/insects7010009](https://doi.org/10.3390/insects7010009)
- SIAP. 2018. Anuario estadístico de la producción. <http://hube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Consulta, febrero de 2019).
- Speranza S., Colonnelli E., Garonna A. P., Laudonia S. 2014. First record of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) in Italy. Fla. Entomolo. 97(2):844-845. DOI: [10.1653/024.097.0275](https://doi.org/10.1653/024.097.0275)
- Toapanta M. A., Schuster D. J., Stansly P. A. 2005. Development and life history of *Anthonomus eugenii* (Coleoptera: Curculionidae) at constant temperatures. Environ. Entomol. 34(5):999-1008. DOI: [10.1093/ee/34.5.999](https://doi.org/10.1093/ee/34.5.999)

DETERMINACIÓN DE ANTIBIOSIS EN GENOTIPOS DE SORGHUM BICOLOR SOBRE MELANAPHIS SACCHARI (ZEHNTNER)

María Alejandra Payán Arzapalo¹, Moisés Gilberto Yáñez Juárez², Carlos Enrique Ail Catzim³, Roberto Gastélum Luque⁴, Juan Eulogio Guerra Liera⁴ y Tirzo Paúl Godoy Angulo⁴

¹Estudiante de doctorado del Colegio de Ciencias Agropecuarias adscrito a la Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa Ingeniera_arzapalo@hotmail.com. ²Director de tesis (FA-UAS), ³Co-director (ICA-UABC), ⁴Asesor (FA-UAS).

RESUMEN

Melanaphis sacchari (Zehntner) en 2013 causó pérdidas en sorgo hasta del 100% en distintos estados de la república mexicana, donde la infestación ocurre desde que emerge la plántula, aunque los daños más severos se presentan durante las últimas etapas de crecimiento. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de antibiosis sobre *M. sacchari* en genotipos de *Sorghum bicolor*. Se estableció la hipótesis que existen genotipos de *S. bicolor* que por antibiosis y/o antixenosis restringen significativamente el daño de *M. sacchari* y logran rendimientos de grano óptimos. Se utilizó un diseño completamente al azar con 11 tratamientos y 25 repeticiones. Se evaluó la respuesta biológica de *M. sacchari* mediante antibiosis, utilizando hojas de sorgo colocadas en cajas Petri, además se usaron las técnicas de tamizaje fitoquímico, TLC, cuantificación de polifenoles para identificar los metabolitos alcaloides, taninos, esteroides, triptepenoides, flavonoides, carbohidratos, saponinas, glucósidos antraquinónicos y cumarinas. En las variables tasa de reproducción neta, tasa intrínseca, tasa finita, media del tiempo generacional y media de fecundidad los genotipos DKS 26, DKS 2805 y Gayland Ward 1160 mostraron los valores más bajos, lo que los clasifica como los genotipos con características antibióticas que evitan el desarrollo, reproducción y longevidad del insecto, el genotipo NK 180 fue el testigo utilizado y exhibió los valores más altos en todas las variables mostrando muy baja antibiosis, se identificaron metabolitos secundarios de composición fenólica (taninos, flavonas y fenoles).

Palabras clave. Metabolitos, reproducción, longevidad del insecto.

SUMMARY

Melanaphis sacchari (Zehntner) in 2013 caused losses in sorghum up to 100% in different states of the Mexican Republic, where the infestation occurs since the seedling emerges, although the most severe damages occur during the last stages of growth. The objective of this work was to determine the effect of antibiosis on *M. sacchari* in genotypes of *Sorghum bicolor*. It was hypothesized that there are genotypes of *S. bicolor* that, due to antibiosis and / or antixenosis, significantly restrict the damage of *M. sacchari* and achieve optimal grain yields. A completely randomized design was used with 11 treatments and 25 repetitions. The biological response of *M. sacchari* was evaluated by means of antibiosis, using sorghum

leaves placed in Petri dishes, in addition the techniques of phytochemical screening, TLC, quantification of polyphenols to identify alkaloid metabolites, tannins, steroids, triptenoids, flavonoids, carbohydrates, saponins, anthraquinone glycosides and coumarins. In the variables of net reproduction rate, intrinsic rate, finite rate, mean of generation time and mean fertility, genotypes DKS 26, DKS 2805 and Gayland Ward 1160 showed the lowest values, which classifies them as genotypes with antibiotic characteristics that they avoid the development, reproduction and longevity of the insect, the genotype NK 180 was the control used and exhibited the highest values in all the variables showing very low antibiosis, secondary metabolites of phenolic composition were identified (tannins, flavones and phenols).

Keywords. Metabolites, reproduction, longevity of the insect.

INTRODUCCIÓN

El pulgón amarillo *Melanaphis sacchari* (Zehntner) Hemiptera: aphididae, es una plaga cosmopolita, afecta a la caña de azúcar y a algunos cereales (Mead, 1978). En estados unidos se reportó atacando a *Sorghum bicolor* (Poaceae) (L.) Moench (Villanueva *et al.*, 2014). A México ingresó en 2013 en el estado de Tamaulipas afectó drásticamente la producción de sorgo, se diseminó rápidamente a los estados de Nayarit, Coahuila, Sinaloa, Guanajuato, Nuevo León, Puebla, San Luis Potosí y Veracruz causando pérdidas económicas en el mismo cultivo (Rodríguez del Bosque y Terán 2015). El sorgo es un grano importante en el mundo debido al uso que se le da, en países como África y Asia es utilizado como cereal para el consumo humano, como fuente de fibra y en la producción de azúcar y etanol. En México destaca por su uso como forraje en grano y verde para animales (Abdehhadia and Santinic, 2006). Las plantas están expuestas la mayor parte de su vida a diversos cambios ambientales, incluyendo el ataque por diferentes insectos y el daño mecánico o por un herbívoro y la invasión por patógenos activan sistemas de defensa de la planta. Para que éstos se activen, las señales provocadas por tales ataques son transmitidas desde el tejido dañado hacia el resto de la planta (respuesta sistémica) o son diseminadas sólo localmente, induciendo cambios en la vecindad del sitio dañado (respuesta local). Estas señales pueden provocar reacciones de defensa y cambios específicos en la planta que conduzcan hacia una mayor resistencia contra organismos invasores (Walling, 2000). La antibiosis es un mecanismo de resistencia a los insectos que se fundamenta en los efectos negativos de que una planta resistente induce en la biología de un insecto (Painter, 1951). La antibiosis se manifiesta de una o varias maneras, por ejemplo mortalidad de estados inmaduros, tasa de crecimiento anormales y generalmente prolongación del ciclo de vida del insecto, fecundidad y fertilidad reducidas, adultos mal formados o muy pequeños, etc. Los metabolitos secundarios son sustancias orgánicas que se encuentran en las plantas, los cuales no tienen un papel definido en los procesos de respiración, asimilación y transporte, a diferencia de los metabolitos primarios (Painter, 1951). Los metabolitos secundarios se sintetizan en pequeñas cantidades a partir del metabolismo primario y no se encuentran presentes en todas las plantas (Robles-García *et al.*, 2016). Tienen funciones ecológicas específicas que intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas, actuando como

atrayentes y repelentes de animales, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas frente a diferentes patógenos (Robles-García *et al.*, 2016).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con la problemática ocasionada por *M. sacchari* en el país, es pertinente determinar el nivel de susceptibilidad a esa plaga de los genotipos de *S. bicolor* cultivados y los mecanismos bioquímicos y morfológicos involucrados (antibiosis y/o antixenosis).

HIPÓTESIS

Existen genotipos de *S. bicolor* que por antibiosis y/o antixenosis restringen significativamente el daño de *M. sacchari* y logran rendimientos de grano óptimos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de antibiosis sobre *Melanaphis sacchari* en genotipos de *Sorghum bicolor*.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la respuesta biológica de *M. sacchari* en genotipos de *S. bicolor*

Determinar metabolitos secundarios relacionado con antibiosis en genotipos de *S. bicolor*

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento de antibiosis se realizó en el laboratorio de entomología del Instituto de Ciencias Agrícolas (Baja California, México). Se sembraron 11 genotipos comerciales de sorgo; Perla 101, Sinaloense 202, Gavatero 203, Costeño 201, Cow Vittle, Gayland Ward 9320, NK 180, DKS 26, DKS 2805, Gayland Ward 9417 y Gayland Ward 1160 en macetas con arena como sustrato en el invernadero en 2017. Las plantas se mantuvieron en el invernadero para su crecimiento con condiciones controladas, temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar los 50 cm de altura, el testigo utilizado fue el genotipo NK 180. La antibiosis se determinó indirectamente a través de la respuesta biológica medida como tasa de reproducción neta (R_0), tasa intrínseca (r), tasa finita ($F.r$), media del tiempo generacional (T) y media de fecundidad (F) y directamente a través de la medición de metabolitos secundarios (alcaloides, taninos, esteroides, triptepenoides, flavonoides, carbohidratos, saponinas, glucósidos antraquinónicos y cumarinas).

Para determinar la respuesta biológica de *M. sacchari* se tomaron recortes de hojas de sorgo de madurez y tamaño similar y se colocaron sobre una capa de algodón saturado de agua desionizada en cajas de Petri plásticas de 12 cm de diámetro. En cada hoja se dispuso una

hembra grávida para obtener ninfas de primer instar. Las cajas se revisaron a las 24 horas para verificar la presencia de una ninfa recién nacida, eliminándose al adulto y al resto de ninfas producidas. Las evaluaciones del tiempo de desarrollo se realizaron cada 24 horas contando la producción de ninfas eliminándose posteriormente, se cambiaron los recortes de hoja de sorgo semanalmente para evitar la muerte del insecto y las evaluaciones finalizaron cuando murió la última hembra. Cada unidad experimental se repitió 25 veces y se usó un diseño completamente al azar. Para facilitar el análisis de los datos para la obtención de los parámetros biológicos se usó el programa TWOSEX-MSChart (Chi, 2008).

Se identificó metabolitos secundarios (alcaloides (Mayer, Dragendorff y Wagner), taninos (Cloruro férrico y gelatina), esteroides y triptepenoides (Lieberman-Burchard), flavonoides (Shinoda), carbohidratos (Benedict), saponinas (espuma), glucósidos antraquinónicos (Borntrager) y cumarinas (Erlich)), en extracto vegetal de 11 genotipos de sorgo; Perla 101, Sinaloense 202, Gavatero 203, Costeño 201, Cow Vittle, Gayland Ward 9320, NK 180, DKS 26, DKS 2805, Gayland Ward 9417 y Gayland Ward 1160 mediante la prueba de tamizaje fitoquímico por Rondina y Cassio descrito por García *et al.* (2003). Se secaron las plantas a temperatura ambiente durante 24 horas en el invernadero, una vez secas se cortaron en 1 cm para su extracción y se pesaron en la balanza. Se maceraron en matraces de vidrio de 125 mL con 50 mL de metanol (CH₃OH) y se agitaron manualmente por 2 minutos cada hora durante 12 horas. Se filtró el macerado en un embudo con papel filtro para obtener la muestra líquida sin material vegetal y se colocó en un matraz de 50 mL y se colocó en el rotaevaporador (Model RE-5000E) a 5 rpm a una temperatura de 35°C hasta destilar por completo y obtener el extracto. Se usaron pruebas cualitativas fitoquímicas, se preparó una disolución de cada extracto vegetal con concentración de 1mg/ml en etanol (15mg de extracto/ 15mL etanol).

Se determinó la presencia de flavonoides por el método de (Bele and Khale, 2011) en 11 genotipos de sorgo usando 7 mg de extracto y se disolvió en 7 ml de etanol (concentración de 1mg/ mL) utilizando tricloruro de aluminio como revelador, taninos con cloruro férrico como revelador y alcaloides con solución Dragendforff. La fase móvil fue compuesta con 70% hexano (3.5 mL) y 30% de acetato de etilo (1.5 mL). Se cortaron placas de sílica de 6 cm de alto por 7 cm de ancho y de 6 cm de alto por 4 cm de ancho para adicionar el extracto de los 11 genotipos estudiados, se colocó extracto de cada genotipo en la placa y enseguida se sumergió hasta llenarse con los solventes, posteriormente se observaron con luz UV para introducirse en la fase química correspondiente. Una vez que se les adicionó el reactivo químico se dejó secar lentamente en una parrilla eléctrica. Finalmente se observaron las coloraciones presentes en cada placa para identificar la presencia o ausencia de los metabolitos.

Siguiendo la metodología propuesta por Folin-Ciocalteu (Folin y Denis, 1912), se realizó solución patrón de cada extracto a evaluar en los 11 genotipos mencionados anteriormente, para ello se pesaron 7 mg de extracto y se disolvió en 7 ml de etanol (concentración de 1mg/ mL). Se prepararon los tubos para cada extracto, a cada tubo se le agregó 3 mL de agua destilada, 0.1 mL de solución del extracto, 0.5 mL de reactivo de Folin y se dejó reposar 3 minutos, finalmente se adicionó 2 mL de carbonato de sodio al 20%. Se agitaron ligeramente

los tubos para homogeneizar y se dejó reposar por 1 hora en condiciones ambientales de luz y temperatura. Pasada la hora se leyeron todos los tubos en el espectrofotómetro visible (GENESYS™ 20) para determinar la absorbancia a una longitud de onda de 650 nm y como blanco se usó agua destilada, se leyó por triplicado cada tratamiento. Se reportó en unidades de gr EAG/100 gr (Gramos Equivalentes de Ácido Gálico por cada 100 gramos de extracto seco). Se utilizó un diseño completamente al azar con 11 tratamientos y tres repeticiones. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y cuando existieron diferencias significativas se realizó comparación de medias por Duncan ($P \leq 0.05$) mediante el paquete estadístico SAS® versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la respuesta biológica la R_o , r , $F.r$, T y F en los genotipos DKS 26, DKS 2805 y Gayland Ward 1160 mostraron los valores más bajos (Cuadro 1), lo que los clasifica como genotipos con características antibióticas que evitan el desarrollo, reproducción y longevidad del insecto, además fueron diferentes significativamente al resto de los genotipos, mientras que NK 180 exhibió los valores más altos en todas las variables estudiadas, mostrando muy baja antibiosis lo que indica que es muy preferido por *M. sacchari* propiciando el desarrollo, reproducción y larga vida del insecto, pero fue estadísticamente igual al resto de los genotipos.

Cuadro 1. Respuesta biológica de *Melanaphis sacchari* en genotipos de *Sorghum bicolor*.

Tratamiento	N	R_o $X \pm \sigma$	R $x \pm \sigma$	F.r $X \pm \sigma$	T $X \pm \sigma$	F $X \pm \sigma$
Perla 101	25	18.2±6.66a (15.46-20.94)	0.25± 0.04 a (0.23-0.27)	1.28±0.05a (1.26-1.30)	11.83± 0.77 a (11.51-12.15)	50.56 ±13.09 a (45.17-55.95)
Sinaloense 202	25	34.24± 7.24a (31.26-37.22)	0.29±0.02a (0.28-0.3)	1.33±0.03a (1.32-1.34)	12.24±0.33 a (12.1-12.38)	57.06± 7.75a (53.87-60.25)
Gavatero 203	25	16.16±5.28a (13.98-18.34)	0.22± 0.03a (0.21-0.23)	1.24±0.04a (1.22-1.26)	12.81±0.64a (12.79-13.07)	40.4±9.07 a (36.66-44.14)
Costeño 201	25	27.88±6.87 a (25.05-30.71)	0.27±0.02 a (0.16-0.38)	1.31±0.029a (0.77-1.85)	12.16± 0.59a (11.92-12.40)	53.61±8.45 a (50.13-57.09)
Cow vittle	25	21.16± 5.36a (18.95-23.37)	0.22±0.02a (0.21-0.23)	1.24±0.02a (1.23-1.25)	14.76±0.38a (14.60-14.92)	44.08±6.50 a (41.40-46.76)
Gayland Ward 9320	25	23.4±6.39 a (20.77-26.03)	0.25±0.02a (0.24-0.26)	1.28± 0.03a (1.27-1.29)	12.77±0.51a (12.56-12.98)	58.5±7.42 a (55.44-61.56)
NK 180	25	39.92± 7.12 a (36.99-42.85)	0.34±0.01a (0.33-0.34)	1.40±0.02a (1.39-1.41)	10.91±0.29a (10.79-11.03)	55.44± 7.09a (52.52-58.36)

DKS 26	25	11.36±4.66b (9.44-13.28)	0.18± 0.03b (0.11-0.25)	1.19±0.04b (0.69-1.68)	13.71±0.86 b (13.35-14.06)	47.33±10.63 b (42.95-51.71)
DKS 2805	25	6.68± 3.52b (5.23-8.13)	0.12±0.04b (0.1-0.14)	1.13±0.04b (1.11-1.15)	15.54±1.02 b (15.12-15.96)	41.75± 13.05b (36.37-47.13)
Gayland Ward 9417	25	34.68±7.4a (31.63-37.73)	0.32±0.02 ^a (0.31-0.33)	1.38±0.03a (1.36-1.39)	11.01±0.22a (10.92-11.10)	61.93± 7.39a (58.88-64.97)
Gayland Ward 1160	25	12.2± 4.43b (10.37-14.02)	0.22±0.03 b (0.21-0.23)	1.25± 0.04 b (1.23-1.27)	11.27±0.44 b (11.08-11.45)	43.57± 7.78b (40.36-46.77)

N: tamaño de la cohorte; Ro: tasa de reproducción neta; r: tasa intrínseca; F.r: tasa finita; T: media del tiempo generacional; F: media de fecundidad; X: media; σ : desviación estándar; (intervalos de confianza).

Los resultados colorimétricos obtenidos indican la presencia (+) o ausencia (-) de los metabolitos secundarios: alcaloides, taninos, flavonoides, carbohidratos, saponinas, ácidos antraquinónicos y cumarinas, identificados de manera cualitativa y reportada en el Cuadro 2. Dentro de las pruebas colorimétricas, se observó que la composición fenólica (taninos y flavonas) fueron positivos, y para el resto de los metabolitos el resultado fue negativo, dentro de la prueba cromatografía de capa fina (TLC) también fueron positivos solo flavonoides (taninos y fenoles) (Cuadro 3). A estos compuestos se les atribuyen considerables propiedades y actúan como antioxidantes, quelantes de cationes divalentes, fotorreceptores y atractivos visuales (Pietta, 2000). Además los flavonoides protegen a las plantas contra microorganismos patógenos, herbívoros radiación UV y temperaturas estresantes. Se cree que un mayor nivel de flavonoides fortalece la defensa de una planta contra estreses bióticos y abióticos, por ejemplo un estudio en tabaco transgénico indicó que con un bajo o nulo nivel de compuestos fenólicos surge mayor susceptibilidad a enfermedades (Chong *et al.*, 2002).

Cuadro 2. Identificación de metabolitos secundarios en genotipos de *Sorghum bicolor* mediante pruebas fitoquímicas

tratamiento	Alcaloides	Taninos	Esteroides y triterpenoides	Flavonoides	Carbohidratos	Saponinas	Ácidos antraquinónicos	Cumarinas
Perla 101	-	Cloruro férrico (-) Gelatina (+)	-	+ flavonas	-	-	-	-

DKS 2805	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (+)	-	+	-	-	-	-
Costeño 201	-	-	-	+	-	-	-	-
DKS 26	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (+)	-	+	-	-	-	-
Gayland Ward 1160	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (+)	-	+ flavonas	-	-	-	-
Sinaloens e 202	-	Cloruro férico (+) Gelatin a (-)	-	+ flavonas	-	-	-	-
Gavatero 203	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (+)	-	+ flavonas	-	-	-	-
NK 180	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (-)	-	+	-	-	-	-
Cow vittle	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (-)	-	+	-	-	-	+
Gayland Ward 9320	-	Cloruro férico (-) Gelatin a (+)	-	+ flavonas	-	-	-	-
Gayland Ward	-	Cloruro férico	-	+ flavonas	-	-	-	-

Cuadro 3. Identificación de metabolitos secundarios en genotipos de *Sorghum bicolor* mediante cromatografía de capa fina

Tratamiento	Vainillina (Fenoles)	Oleum (compuestos orgánicos)	Flavonoides	Taninos	Alcaloides
Perla 101	+	+	+		-
DKS 2805	+	+	+	+	-
Costeño 201	+	+	+	+	-
DKS 26	+	+	+	+	-
Gayland Ward 1160	+	+	+	+	-
Sinaloense 202	+	+	+	+	-
Gavatero 203	+	+	+	+	-
NK 180	+	+	+	+	-
Cow vittle	+	+	+	+	-
Gayland Ward 9320	+	+	+	+	-
Gayland Ward 9417	+	+	+	+	-

El genotipo Perla 101 mostró mayor contenido de polifenoles y fue estadísticamente igual que DKS 2805 y Costeño 201 ($F= 5.12$), ($P= 0.0007$), ($g.l.=10$) pero diferente al resto (Cuadro 4). Los genotipos que exhibieron menor contenido de polifenoles fueron Gayland Ward 1160, Sinaloense 202, NK 180, Gavatero 203, Cow vittle, Gayland Ward 9320 y Gayland Ward 9417.

Cuadro 4. Contenido de polifenoles en genotipos de sorgo

Tratamiento	Contenido de polifenoles
Perla 101	0.13967a
DKS 2805	0.13000ab
Costeño 201	0.12033abc
DKS 26	0.11033bcd
Gayland Ward 1160	0.10233cde
Sinaloense 202	0.09900cde
Gavatero 203	0.09633cde

NK 180	0.09433cde
Cow vittle	0.09367cde
Gayland Ward 9320	0.08233ed
Gayland Ward 9417	0.07900e

Existen diversos estudios sobre la resistencia y la actividad antibiótica en genotipos de sorgo en diferentes lugares que concuerdan con lo reportado en el presente estudio donde el efecto antibiosis es un mecanismo de defensa de las plantas y les confiere tolerancia al ataque de *M. sacchari*. En la India Sharma *et al.* (2013), investigaron la resistencia de genotipos de sorgo afectados por *M. sacchari*, utilizando diferentes técnicas y mecanismos de resistencia como antibiosis y antixenosis, reportando que las líneas 61510, ICSV 12001, ICSV 12002, ICSV 12003, ICSV 12004, ICSV 12005, SLR 41, PU 10-1 y DJ 6514 mostraron niveles moderados de resistencia a *M. sacchari*. Estos genotipos también exhibieron una tasa más baja de multiplicación de áfidos en las técnicas jaula clip y discos de hojas debido al mecanismo de antibiosis. Un año más tarde también en la India Sharma *et al.* (2014) evaluaron la respuesta y resistencia de genotipos de sorgo al ataque de *M. sacchari*, donde los genotipos ICSR 165, ICSB 724, IS 40615, DSV 5 e ICSB 323 exhibieron niveles moderados de resistencia al daño del áfido (clasificación de daño <5.0, utilizando una escala de 1-9) y también presentaron un alto potencial de rendimiento de grano (> 30 q / ha). Por otra parte en India (Bhagwat *et al.*, 2014), evaluaron la resistencia en líneas de sorgo en tres ciclos consecutivos en época de post-lluvias atacadas por *M. sacchari* mediante antibiosis como mecanismo de resistencia, reportando que las líneas SLB 80, ICSV 93046 y SLR 31 fueron moderadamente resistentes con efectos antibióticos en los áfidos. Además en Brasil da Da-Silva *et al.* (2014), evaluaron el crecimiento poblacional de *M. sacchari* en cultivares de caña de azúcar y sorgo, obteniendo tablas de vida donde los parámetros período reproductivo, periodo posproductivo, fecundidad y longevidad fueron significativamente diferentes por contraste y claramente se mostró que el sorgo es más preferido para el crecimiento de la población de *M. sacchari* que en caña de azúcar. Mohamed *et al.* (2015), investigaron en Estados Unidos la respuesta antibiótica y la comparación del ciclo de vida de los áfidos *M. sachari* y *Schizaphis graminum* en cultivares de sorgo susceptibles y tolerantes, reportando que el genotipo PI 550610 expresa antibiosis en los dos áfidos estudiados, expresando alta moratilidad en estados inmaduros, retraso del desarrollo y baja tasa reproductiva de *M. sacchari*. Por otra parte Armstrong *et al.* (2017), evaluaron en Estado Unidos resistencia en 32 genotipos de sorgo que determinan antibiosis y reportan que los genotipos B11055 y R13219 expresaron alta antibiosis comportándose como los mejores. Recientemente Limaje *et al.* (2018), en Estados Unidos estudiaron antibiosis y tolerancia en ocho líneas de sorgo resistentes a *M. sacchari*, encontrando que las líneas R.11143 and R.11259 mostraron tolerancia, pero en los estudios reproductivos la antibiosis se mostró claramente como un mecanismo de resistencia, donde la tasa de reproducción, número de ninfas producidas por día, tasa intrínseca de crecimiento y los días de periodo reproductivo fueron significativamente muy bajos.

En la búsqueda de soluciones alternativas a los problemas en la sanidad vegetal, se ha incrementado el interés en las plantas y su quimio-biodiversidad como fuente de metabolitos

secundarios bioactivos. El potencial del uso de material vegetal como elemento de disuasión contra las plagas en los cultivos, en el campo y durante el período de poscosecha, es un estudio que actualmente está ganando aceptación como resultado del uso indiscriminado de plaguicidas químicos que han dado lugar a muchos problemas bien conocidos, incluida la resistencia genética de especies de plagas, residuos tóxicos en productos almacenados, costos de aplicación cada vez mayores, peligros de manipulación y contaminación ambiental (Hassan, 2010). El potencial de metabolitos secundarios en la protección de las plantas podría ser utilizado como una estrategia alternativa más reciente, destinada a reforzar la defensa de la planta desarrollando sus propios mecanismos a través de aleloquímicos (Regnault-Roger, 2012). Existen diversos estudios sobre el uso de metabolitos secundarios presentes en las plantas como antibiótico contra plagas por ejemplo en 2009 en California, productos botánicos representaron solo el 8.4% de los bioplaguicidas utilizados, pero su uso creció en 245% entre 2003 y 2009 (Fischer *et al.*, 2013). Dentro de las tácticas alternativas de control de plagas se ha sugerido combinar métodos para mejorar la eficacia, y el uso de los metabolitos secundarios como bioplaguicidas que son compuestos no tóxicos que muestran cierta selectividad hacia un insecto plaga pero no hacia sus enemigos naturales, polinizadores y el medio ambiente (Isman, 2010).

CONCLUSIONES

- Los genotipos DKS 26, DKS 2805 y Gayland Ward 1160 mostraron características de antibiosis, con menor reproducción, fecundidad y menor tiempo de vida en las hembras.
- Se encontraron metabolitos secundarios de composición fenólica (taninos, flavonas y fenoles) en los genotipos de sorgo.

LITERATURA CITADA

Abdehhadia L. O., Santinic F. J. 2006. Corn silage versus grain sorghum silage as a supplement for growing steers grazing high quality pastures: Effects on performance and ruminal fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 127:33-43. ISSN: 03778401 <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.010>.

Armstrong S. J., Mbulwe L., Sekula-Ortiz D., Villanueva T. R. and Rooney L. W. 2017. Resistance to *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) in Forage and Grain Sorghums. *Journal of Economic Entomology*. 110: 259-265. ISSN: 0022-0493. Doi: 10.1093/jee/tow261.

Bele A. A. and Khale A. 2011. An overview on Thin Layer Chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2: 256-267. ISSN (Online): 0975-8232, ISSN (Print): 2320-5148 DOI: <http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.2>.

Bhagwat V. R., Shyamp P. G., Prabhakar P. D. B., Biradars A. P., Srinivasa B. K., Kalaisekar A., Subbarayudu B. and Patil J. V. 2012. Detection of durable resistant sources for sugarcane aphids, *Melanaphis sacchari* and their mechanisms of resistance in post rainy sorghum. Indian Journal of Agricultural Sciences 84: 1274–1277. ISSN: 0019-5022. <https://link.springer.com/article/10.1007/s004250050082>.

Chi H. 2008. TWSEX-MSChart: computer program for age-stage, two-sex life table analysis. ([http:// 140.120.197.183/Ecology](http://140.120.197.183/Ecology)).

Chong J., Baltz R., Schmit C., Beffa R., Fritig B. and Saindrenan P. 2002. Downregulation of a pathogen-responsive tobacco UDP-Glc: phenylpropanoid glucosyltransferase reduces scopoletin glucoside accumulation, enhances oxidative stress, and weakens virus resistance. Plant Cell. 14: 1093-107. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.010436>.

Da-Silva, L. M., Rocha, A. D. y Bezerra, D.K T. 2014. Potential population growth of *Melanaphis sacchari* (Zethner) reared on sugarcane and sweet sorghum. Current Agricultural Science and Technology 20: 21-25. ISSN: 2317-2436. DOI: 10.18539/CAST.V2011.3534.

Fischer D, Imholt C, Pelz HJ, Wink M, Prokopc A, Jacoba J. 2013. The repelling effect of plant secondary metabolites on water voles, *Arvicola amphibious*. Pest Management Science 69:437-443. ISSN: 1526-498X <https://doi.org/10.1002/ps.3438>.

Folin O. y Denis w. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. Journal Biological Chemistry. ISSN · 0021-9258 12: 239-43.

García D. E., Ojeda F. y Montejo I. 2003. Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). I Análisis cualitativo de metabolitos secundarios. *Pastos y Forrajes*. 26: 335. ISSN (Print): 0864-0394, ISSN (Online) 2078-8452. <https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path%5B%5D=814>.

Hassan A. M. M. 2010. The potential of secondary metabolites in plant materials deferents against insect pests: A review. African Journal of Pure and Applied Chemistry. 4:243-246. ISSN: 1996-0840 http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1379502578_Adeyemi.pdf.

Isman M. B. 2010. Botanical insecticides, deterrents, repellents and oils. In: Bharat P, editor. Industrial Crops and Uses. CAB International. 433- 445. Doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151146.

Limaje, A., Hayes, B., Scott, A. J. C., Hoback, W., Zarrabi, A., Paudyal, S. and Burke, J. 2018. Antibiosis and Tolerance Discovered in USDAARS Sorghums Resistant to the Sugarcane Aphid (Hemiptera: Aphididae). Journal of Entomological Science, 53:230-241. ISSN: 0749-8004. <https://doi.org/10.18474/JES17-70.1>.

Mead F. W. 1978. Sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) - Florida -New continental United States record. Coop. Plant Pest Rep. 3: 475.

Mohamed, H. B., Ramaswamy, P. y Michaud, J. P. 2015. Comparative Life Histories of Greenbugs and Sugarcane Aphids (Hemiptera: Aphididae) Coinfesting Susceptible and Resistant Sorghums. Journal Entomological Science 1–8. ISSN: 0749-8004. DOI: 10.1093/jee/tov271.

Regnault-Roger C. 2012. Trends for commercialisation of biocontrol agent (biopesticide) products. In: Méridon JM, Ramawat KG, editors. Plant defence: biological control, progress in biological control 12:139-60. ISSN: 978-94-007-1933-0. Doi: 10.1094/PHP-2012-0510-01-RV. Robles-García M. A., Aguilar A. J., Gutiérrez-Lomelí M., Rodríguez-Félix F., Morales-Del-Río J. A., Guerrero-Medina P. J., Madrigal-Pulido J. A. y Del-Toro-Sánchez C. L. 2016. Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de Tempisque (*Sideroxylum capiri* PITTIER). Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. 3: 3-8. ISSN: 2250-4435 <http://132.248.9.34/hevila/Biotecnia/2016/vol18/no3/1.pdf>.

Rodríguez-del-Bosque, L. A., B. Rodríguez-Vélez, M. A. Sarmiento-Cordero, and H. C. Arredondo-Bernal. 2018. Natural enemies of *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) on grain sorghum in northeastern Mexico. Southwestern Entomologist 43: 277-279. ISSN :0147-1724. <https://doi.org/10.3958/059.040.0217>.

Sharma H.C., Sharma S. P. and Munghate R. S. 2013. Phenotyping for resistance to the sugarcane aphid *Melanaphis sacchari* (Hemiptera:Aphididae) in sorgo bicolor (Poaceae). International Journal of Tropical Insect Science 33: 227-238. ISSN: 1742-7584 (Print), 1742-7592 (Online). Doi: 10.1017/S1742758413000271.

Sharma H.C., Bhagwat V. R., Daware D. G., Pawar D. B., Munghate R. S., Sharma S. P., Kumar A. A., Reddy B.V.S., Prabhakar K. B., Ambekar S. S. and Gadakh S. R. 2014. Identification of sorghum genotypes with resistance to the sugarcane aphid *Melanaphis sacchari* under natural and artificial infestation. Plant Breeding. ISSN: 0179-9541. doi:10.1111/pbr.12111.

Painter, R. H. 1951. Insect resistance to crop plants. The Mc Millan Co., New York, pp. 151. <http://dx.doi.org/10.1097/00010694-195112000-00015>.

Pietta P. G. 2000. Flavonoids as antioxidants. J Nat Prod.63:1035–42. <https://pdfs.semanticscholar.org/239f/602e0e86d882b6f940e194bb5f653f13b822.pdf>.

Villanueva R. T., M. Brewer M. O. Way S. Biles D. Sekula-Ortiz E. Bynum J. Swart C. Crumley A. Knutson P. Porter et al. 2014. Sugarcane aphid: A new pest of sorghum. Texas A&M Agrilife Extension, Ento-035. ([http:// denton.agrilife.org/files/2013/08/ENTO-035-The-Sugarcane-Aphid-2014.pdf](http://denton.agrilife.org/files/2013/08/ENTO-035-The-Sugarcane-Aphid-2014.pdf)).

Walling L.L. 2000 .The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation* 19: 195-216. ISSN: 0721-7595 (Print) ISSN: 1435-8107 (Online). DOI: 10.1007/s003440000026.

PRODUCCIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEICOS DE MÚSCULO DE SARDINA CRINUDA (*Opisthonema libertate*) CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES

Jorge Manuel Sandoval Gallardo¹, Jorge Saul Ramírez Pérez², Jesús Aarón Salazar Leyva³, Crisantema Hernández González⁴, Miguel Ángel Hurtado Olivas² y Ángel Valdez Ortíz⁵.

- 1.- Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa. jorge.sandoval.facimar@uas.edu.mx
- 2.- Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa.
- 3.- Universidad Politécnica de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa.
- 4.- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Mazatlán, Sinaloa.
- 5.- Universidad Tecnológica de Culiacán. Culiacán, Sinaloa.

RESUMEN

Objetivo. Producir HP del músculo de sardina crinuda (*O. libertate*) y determinar sus propiedades antioxidantes. **Metodología.** Los HP se obtuvieron del músculo de sardina mediante hidrólisis enzimática, evaluando tres factores del proceso: pH (8 y 9), temperatura (40 y 50°C) y concentración de enzima (CE) Alcalasa® (1 y 3% p/v). La concentración de proteína se mantuvo constante al 4% con respecto a la masa total de reacción. Las variables respuesta evaluadas, fueron el grado de hidrólisis (GH) usando el método de pH-STAT y la capacidad antioxidante (CAOX) por las técnicas de DPPH, ABTS y FRAP. **Resultados.** Se obtuvieron HP con diferentes GH (entre 9.6 y 33.1 %), siendo los obtenidos con CE del 3% en los que se alcanzaron mayores GH (24.2, 27.51, 29.8 y 33.1 %) y mayor CAOX en todas las pruebas. El valor más elevado ($P < 0.05$) de GH se alcanzó a pH 9 y 50°C, mientras que la CAOX más alta ($P < 0.05$) se observó en los GH que fueron obtenidos a pH 8 y 50°C, exhibiendo una EC_{50} de 42.47 y 1.2 mg/mL, medidos con DPPH y ABTS respectivamente. **Conclusión.** Se lograron obtener HP con CAOX a partir del músculo de sardina crinuda, observándose que las condiciones bioquímicas empleadas para la obtención de los HP ejercen un efecto importante sobre el GH y la CAOX. Bajo las condiciones de este estudio, los HP que exhibieron mayor capacidad antioxidante, fueron aquellos obtenidos a pH 8, 50 °C y concentración de enzima del 3%. **Palabras clave.** Enzimas, Condiciones de proceso, EC_{50} , pH-STAT.

ABSTRACT

Objective. Produce HP from crinuda sardine (*O. libertate*) and determine their antioxidant properties. **Methodology:** HP were obtained from crinuda sardine muscle using enzymatic hydrolysis, three process factors were evaluated: pH (8 and 9), temperature (40 y 50°C) and enzyme concentration (CE) of Alcalase® (1 and 3% p/v). Protein concentrations remains constant at 4% (p/v) of the total mass of reaction. Evaluated variables were hydrolysis degree (GH), using pH.STAT method and the antioxidant capacity (CAOX) determined by DPPH, ABTS and FRAP method. **Results:** HP with different GH (between 9.6 and 33.1%) were obtained, standing up the HP produced with 3% of CE (between 24.2 and 33.1 %) also for CAOX in all methods. The highest ($P < 0.05$) GH reached was applying a pH of 9 and 50°C, while the highest CAOX ($P < 0.05$) observed was using a pH of 8 and 50°C, showing and EC_{50} of 42.47 and 1.2 mg/mL, for DPPH and ABTS methods. **Conclusions:**

Successfully, HP with CAOx were obtained from the crinuda sardine muscle, showing that biochemical conditions used for the HP obtention perform and important effect over GH and CAOx. Under the conditions used in this study, the HP that exhibit the highest CAOx were those obtained at pH of 8, 50 °C and a CE of 3%. **Keywords.** Enzymes, Process conditions, EC₅₀, pH-STAT.

INTRODUCCIÓN

Los peces pelágicos menores representan alrededor del 40% de las capturas de organismos marinos en México, lo que define a esta pesquería como una de las más importantes del país (FAO, 2011). En el sur del Golfo de California los registros de captura de pelágicos menores están constituidos por tres especies de sardina conocidas indistintamente como “crinuda”: *Opisthonema libertate* (Günther, 1867), *O. bulleri* (Regan, 1904) y *O. medirastre* (Berry y Barrett, 1963), así como un engraulido llamado “sardina bocona” *Cetengraulis mysticetus* (Günther, 1867). Las descargas del recurso son destinadas a la elaboración de harina y aceite de pescado, para la producción de materia prima de alimentos para la engorda de animales (Jacob-Cervantes, 2010). El género *Opisthonema* está integrado por tres especies de sardina (*O. libertate*, *O. medirastre* y *O. bulleri*). La pesquería de peces pelágicos menores en el sur del golfo de California se realiza en el puerto de Mazatlán, Sinaloa, con una flota pesquera que captura frente a los litorales del estado de Sinaloa, desde Punta Ahome, toda la costa de Nayarit, hasta Bahía de Banderas, Jalisco (Jacob-Cervantes, 2010). La flota pesquera de pelágicos menores ha registrado capturas del año 2000 al 2014 y muestran una producción promedio de 74,140 t anuales, con máximos de captura en los años 2012 y 2011 con 131,945 y 112,705 t respectivamente, lo que representa una cantidad de biomasa considerable, la cual es destinada única y exclusivamente a la producción de harina y aceite de pescado (Maz Sardina, 2015). Por otro lado, diversos estudios han concluido que el pescado puede servir como fuente para la obtención de productos funcionales, como ácidos grasos polinsaturados, polisacáridos, vitaminas y minerales, enzimas y péptidos bioactivos con actividad antioxidantes (Pomponi, 1999). Estos últimos pueden ser producidos a partir de la proteína de pescado mediante 3 métodos: hidrólisis química, fermentación microbiana e hidrólisis enzimática, obteniéndose péptidos de cadena corta. Sin embargo, la hidrólisis enzimática es el método preferido en la industria farmacéutica y de los alimentos debido a que los otros métodos pueden dejar residuos químicos o productos nocivos en el producto final (Alasalvar *et al.*, 2010). **Los péptidos bioactivos son fragmentos de proteína específicos, que además de actuar como fuente de nitrógeno y aminoácidos tienen numerosas funciones biológicas potenciales en los organismos; estos incluyen actividad opioide, inmunomodulatoria, antibacteriana, antitrombótica, antihipertensiva y antioxidante. Además, algunos de esos péptidos pueden exhibir propiedades multifuncionales, es decir, presentar dos o más actividades.** Un gran número de estudios han demostrado que los péptidos derivados de diferentes hidrolizados de proteína de pescado actúan como agentes antioxidantes (Harnedy *et al.*, 2012). Un antioxidante se define como cualquier sustancia que retrasa considerablemente o inhibe la oxidación de una sustancia, éstas juegan un papel significativo en los alimentos pues protegen el cuerpo contra el estrés oxidativo. Las especies reactivas

del oxígeno (ERO) y los radicales libres se generan durante la respiración celular en humanos y otros organismos aeróbicos, para el caso de organismos marinos se ha reportado que causan principalmente daño a las células debido a problemas de peroxidación lipídica y daño al DNA, provocando mutaciones y la muerte de organismos (Su *et al.* 2015). En este sentido, es de especial importancia el desarrollar procesos que permitan obtener nuevos productos a partir de la proteína de sardina crinuda. Una opción de procesamiento puede ser la elaboración de hidrolizados proteicos, los cuales pueden ser introducidos al mercado de los alimentos como aditivo funcional, pues se ha comprobado que estos contienen gran cantidad de compuestos benéficos para el organismo como los péptidos de fácil absorción, pero principalmente por su efecto antioxidante (Benítez *et al.*, 2008). Por ello, el aprovechar una biomasa como la que representa la sardina “crinuda” en el sur de Golfo de California para el desarrollo de nuevas alternativas de procesamiento, que no solo sean ricos en propiedades nutricionales, sino que también aporten propiedades bioactivas a esos productos, la convierten en una opción muy conveniente para el sector industrial.

JUSTIFICACIÓN

La sardina crinuda (*Ophistonema* spp.) representa una pesquería muy importante y con gran potencial para la región del Noroeste de México; no obstante, el total de su biomasa se destina principalmente a la elaboración de harina y aceite de pescado. Hoy en día es posible encontrar nuevas opciones de procesamiento para este tipo de biomasa, como la producción de hidrolizados proteicos (HP), los cuales llegan a presentar propiedades funcionales importantes como la actividad antioxidante.

HIPÓTESIS

La actividad antioxidante de los HP de músculo de sardina “crinuda” (*Ophistonema* spp.) puede maximizarse mediante la optimización de las condiciones del proceso de hidrólisis enzimática, haciendo uso de la metodología de superficie de respuesta (MSR).

OBJETIVO GENERAL

Optimizar el proceso de hidrólisis de las proteínas del músculo de sardina crinuda (*Ophistonema* spp.) para la obtención de hidrolizados proteicos con propiedades antioxidantes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Establecer el efecto de las condiciones de hidrólisis (relación enzima/sustrato, temperatura y pH) de las proteínas del músculo de sardina crinuda (*Ophistonema* spp.) sobre la capacidad antioxidante y grado de hidrólisis de los hidrolizados proteicos obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Como materia prima se usó el músculo de sardina crinuda (*Ophistonema* spp.) proporcionado por la empresa Maz Sardina S.A de C.V. El músculo se maceró y se separó en diferentes lotes para ser almacenados en bolsas de plástico resellables a -80 °C hasta su uso.

Determinación de la composición proximal del músculo de sardina crinuda

La determinación de humedad y el contenido de ceniza se llevó a cabo según la AOAC (1995) a partir de los métodos estándar 930.15 y 942.05, respectivamente. Se utilizó el método de Kjeldahl (método 955.04 de la AOAC, 2012) para determinar el contenido total de nitrógeno presente en los hidrolizados proteicos. La proteína cruda se calculó multiplicando el contenido total de nitrógeno obtenido por el método de Kjeldahl, por el factor de 6.25. Los lípidos se determinaron gravimétricamente después de la extracción Soxhlet (método 920.39 de la AOAC, 2012) de muestras secas con hexano. Todas las mediciones se realizaron por triplicado. Los contenidos de proteína y grasa fueron expresados con base en peso húmedo.

Obtención de hidrolizados proteicos (HP) de músculo de sardina crinuda

Se siguió lo propuesto por Bougatef *et al.* (2009) con ligeras modificaciones, la mezcla de reacción se preparó con 4% de proteína de músculo de sardina y se llevó a un volumen de 100 mL con agua destilada; después se homogenizó la mezcla con un procesador de alimentos (Braun, USA) durante 1.5 min. Posteriormente, la mezcla se llevó a un termobañó a 90 °C durante 15 min para inactivar las enzimas endógenas presentes en el músculo de la sardina. Antes de iniciar la reacción enzimática se ajustó el pH y temperatura de la mezcla, probando diferentes valores experimentales de pH (8 y 9) y temperatura (40 y 50°C). Una vez que las condiciones se mantenían estables por un periodo de 30 min se añadió la enzima (Alcalasa 2.4 L) a la mezcla. Para ello, en esta etapa se analizaron dos concentraciones de enzima (CE): 1 y 3% (p/v); el proceso de hidrólisis se llevó a cabo por un periodo de 3 h, de acuerdo con lo reportado por Chabeaud *et al.* (2009). La actividad hidrolítica de la enzima se detuvo por calentamiento en un termobañó a 90 °C durante 15 minutos. Ya finalizado el proceso, la mezcla se centrifugó a 9000 × g. durante 30 min para separar las fracciones solubles e insolubles. Finalmente, se recuperó la fase soluble y se sometió a proceso de liofilizado, para después ser almacenada -20°C hasta su posterior uso.

pH-STAT

Para la determinación del GH se siguió la metodología de Adler-Nissen (1986). El pH-STAT es un método acoplado al proceso de hidrólisis, el cual consiste en monitorear el curso de la reacción donde se liberan protones debido a la ruptura de enlaces peptídicos y causan la disminución del pH de la mezcla de reacción. Durante el proceso de hidrólisis, el pH se mantuvo constante mediante la adición de una base (NaOH 0.5 N).

Evaluación de la actividad antioxidante (AAOX) de los hidrolizados proteicos

Ensayo DPPH

La actividad de captación de radicales DPPH de los hidrolizados se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), donde, una alícuota de cada muestra se mezcló con buffer de Tris (50 mM, pH 7.4) y con una solución preparada al día de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) en metanol. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente y en oscuridad por 30 min, se midió la reducción del radical DPPH a 515 nm. Un blanco se analizó de la misma manera mediante el uso de agua destilada en lugar de la muestra, y el control de la muestra también se realizará para cada muestra mediante la adición de metanol en lugar de la solución de DPPH.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de la composición proximal del músculo de sardina crinuda

En la Tabla I se observa la composición proximal del músculo de sardina crinuda. Valls et al. (2010) reportó valores de humedad, grasa, proteínas y cenizas de 75.27 %, 1.78 %, 20.04 % y 1.64 % base húmeda (bh) respectivamente para sardina (*Sardinella aurita*), siendo mayor

Tabla I. Composición proximal del músculo de la sardina crinuda

PARÁMETRO	PORCENTAJE (% bh)
Humedad	69.11 ± 0.12
Grasa	1.4 ± 0.13
Proteína	25.56 ± 0.02
Ceniza	2.2 ± 0.016

sardina crinuda analizada en este estudio.

Por otro lado, Moura *et al.* (2009) reportó valores de humedad, grasa, proteína y ceniza para tilapia (*Oreochromis niloticus*) de 81.69 %, 1.9 %, 18.25 % y 1 % (bh) respectivamente, la cual comparada con la sardina crinuda posee menores valores de humedad, grasa y proteína, para esta última de alrededor del 7%. Balogun (1985) reportó para Bonito (*Katsuwonus pelamis*) valores proximales (bh) de 72.6% para humedad, 2.57% de grasa, 25.5% de proteína, y 2.42% de cenizas, mostrando valores mayores de humedad, grasa y cenizas que los obtenidos en el presente estudio, para el caso de proteína se obtuvieron valores muy similares del 25.5%. La sardina crinuda también posee porcentajes (bh) mayores de proteína, comparándolo con otras fuentes proteicas como la carne de pollo, para la cual reporta Abeni *et al.* (2001) valores del 22.8%. Por lo anterior la sardina *Ophistonemas spp.* es una buena alternativa para la elaboración de hidrolizados proteicos, ya que poseen un contenido elevado de proteína comparándolas con otras especies animales.

pH-STAT

En la Tabla II se aprecian las condiciones experimentales usadas para la obtención de HP de músculo de sardina “crinuda”.

Tabla II. Condiciones experimentales para la obtención de HP de sardina crinuda utilizando el método del pH-STAT

Nombre tratamiento	Concentración Enzima (CE), (%)	Tiempo (h)	Músculo sardina (g)	T (°C)	pH
--------------------	--------------------------------	------------	---------------------	--------	----

p/v)					
E1	1	3	15.29	50	9
E2				50	8
E3				40	8
E4				40	9
E5	3	3	15.29	50	9
E6				40	9
E7				50	8
E8				40	8

Los datos experimentales, ponen en evidencia el efecto del aumento de la temperatura y el pH en el incremento del GH. En la Figura 1 se observan los porcentajes de hidrólisis obtenidos a diferentes condiciones de proceso, usando una CE del 1%. Con las condiciones del E1, se alcanzó el GH más alto, mientras que en E4, al usar las condiciones de procesamiento más bajas, el GH disminuyó. Cheabeaud *et al.* (2009) reporta la misma tendencia, al aumentar el pH y la temperatura también logró aumentar el GH, haciendo uso de la enzima Alcalasa 2.4L. Tal comportamiento puede explicarse debido a lo reportado en el 2014 (Calvo), se menciona que modificar el pH o la temperatura en el medio de reacción tiene un efecto directo sobre la enzima hidrolítica, ellas en su estructura poseen cadenas laterales de aminoácidos, en las cuales podemos encontrar grupos químicos ionizables (carboxilos -COOH; amino -NH₂; tiol -SH; imidazol, etc.), éstos, según el pH del medio, pueden tener carga eléctrica positiva, negativa o neutra. Por ello, se ve modificada la conformación de la proteína, pues, depende en parte, de sus cargas eléctricas, por lo que habrá un pH en el cual la conformación de la enzima será la más adecuada para desarrollar su mayor actividad catalítica, manteniendo dicha conformación se podrá alcanzar un mayor GH. Por otro lado, este mismo efecto se puede apreciar al aumentar la temperatura, la cual, de manera general, tiende a acelerar las reacciones químicas y enzimáticas, en ocasiones por cada incremento de 10°C, se logra duplicar la velocidad de reacción, por lo que es posible alcanzar un mayor GH en menor tiempo. Sin embargo, para aumentar o disminuir el pH y la temperatura siempre se tiene que tener en cuenta las propiedades bioquímicas de la enzima en cuestión, pues el superar los límites óptimos de actividad enzimática se traducirá en efectos negativos, principalmente disminución de la actividad o en casos extremos la desnaturalización de la enzima.

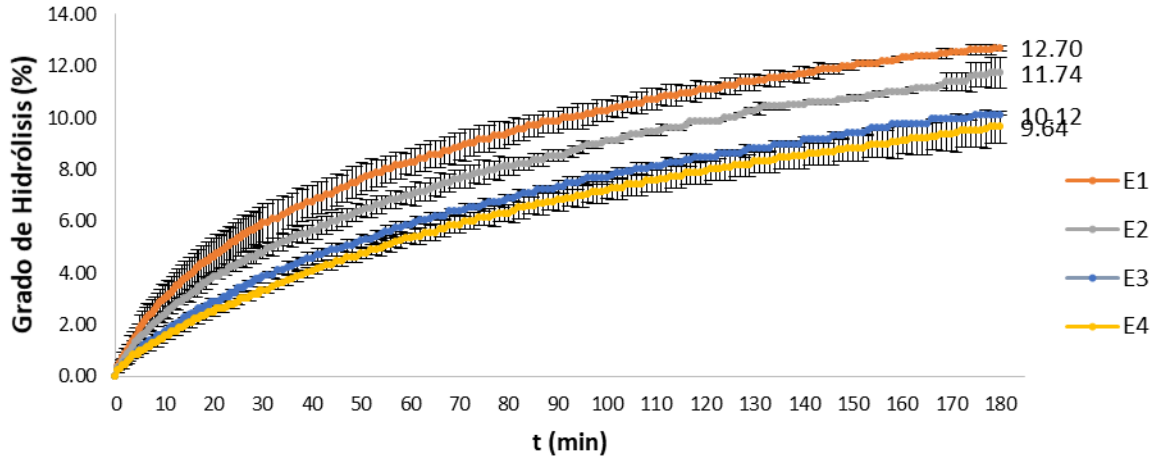


Figura 1. Grado de hidrólisis de músculo de sardina crinuda obtenido a diferentes condiciones de pH y temperatura. CE= 1%. Barras de error indican desviación estándar (n=2).

En la Figura 2 se observa un mismo comportamiento al de la Figura 1, al aumentar los parámetros de pH y temperatura, aumenta considerablemente el GH. Sin embargo, otro factor muy importante a considerar es la concentración de enzima a usar durante el proceso de hidrólisis, con una concentración de enzima del 3% se logró obtener un incremento casi del triple en el GH final alcanzado en los experimentos E5, E6, E7 y E8 comparados con los anteriormente descritos. Klompong *et al.* (2007), elaboró HP de jurel (*S. leptolepis*) y comparó diferentes CE, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 7.5 y 10% (p/p) logrando obtener un GH mayor en cada concentración, de aproximadamente de 22.5, 26, 29, 35, 39 y 42.5% respectivamente. Al haber mayor cantidad de enzima en la mezcla de reacción la cantidad de enlaces peptídicos rotos por unidad de tiempo se incrementa considerablemente, lo cual implica un mayor GH. El GH más alto obtenido en este estudio fue del 33.1%, Yarnpakdee *et al.* (2015) hidrolizaron músculo de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con enzima Alcalasa 2.4 L., obteniendo GH del 10, 20, 30 y 40%, mencionan haber obtenidos péptidos con mejores características antioxidantes a un GH del 30%. De igual manera, Thiansilakul *et al.* (2007), reporta la hidrólisis enzimática del músculo de la macarela alicorta (*Decapterus maruadsi*) con Alcalasa 2.4 L., a diferentes GH, observando una mayor actividad antioxidante conforme aumenta el GH. Por otro lado, un estudio de Li *et al.* (2012), en el cual elaboraron HP de músculo de carpa herbívora (***Ctenopharyngodon idellus***) **con la enzima Alcalasa 2.4 L., lograron un GH de 20%, sin embargo, encuentra una mayor actividad antioxidante a un GH de 10%, mostrando un comportamiento contrario a lo reportado por otros autores, por ello se debe considerar que, no sólo el GH es determinante para una mayor bioactividad, otra característica muy importante a considerar son los residuos de aminoácidos que componen a los péptidos del HP, los cuales dependiendo de su naturaleza química pueden brindar en conjunto diferentes características bioactivas.**

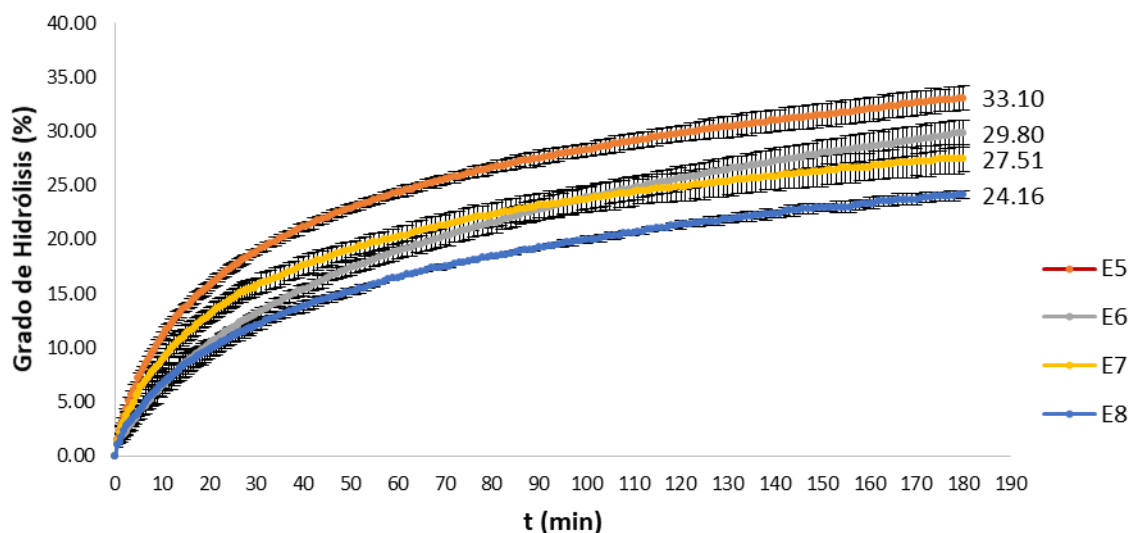


Figura 2. Grado de hidrólisis de músculo de sardina crinuda obtenido a diferentes condiciones de pH y temperatura. CE= 3%. Barras de error indican desviación estándar (n=2).

Con el método del pH-STAT, se logró determinar el GH de los HP del músculo de sardina crinuda de manera más precisa, además resultó ser reproducible a las condiciones de trabajo propuestas en este trabajo, y permitió comparar y discutir los resultados de esta investigación con el de otros autores. Por ello, se eligió a este método para utilizarse durante el desarrollo de esta investigación.

Actividad antioxidante

Ensayo DPPH

El efecto de los hidrolizados de músculo de sardina crinuda en la inhibición del radical DPPH permitió observar el efecto de las condiciones de hidrólisis usadas en la producción de los HP, así como el GH, sobre la capacidad antioxidante que presentan los péptidos obtenidos con dichos parámetros. En la Figura 3 se muestra la actividad antioxidante que presentaron la serie de hidrolizados descritos en la Tabla II, observándose diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas para cada hidrolizado, manteniendo la misma tendencia en todos los tratamientos, a menor concentración del hidrolizado se presentaba una menor inhibición, mismo efecto es descrito por Galla *et al.*, (2012) para la inhibición del radical DPPH por hidrolizados proteicos de pescado a diferentes concentraciones, por ello, al haber menos compuestos activos por unidad de volumen el porcentaje de inhibición será menor o viceversa. La Figura 3A, muestra la serie de hidrolizados obtenidos usando una CE=1%, en la cual los tratamientos E1, E2 y E3 mostraron la mayor inhibición, con un porcentaje de alrededor del 15% a la concentración de 10 mg/mL. Una tendencia similar se observa para la concentración de 5 mg/mL, mientras que a una concentración de 1 mg/mL la inhibición del radical es muy baja, sin superar el 1%, o incluso nula en algunos de los tratamientos. Elavarasan *et al.*, (2013) reportaron valores de inhibición del radical DPPH del 65% a una concentración de 2 mg/mL de hidrolizados de músculo de carpa (*Catla catla*) producidos con

Alcalasa al 1%, pH: 8 y T: 50 °C, con un GH del 6.4%, mismas condiciones usadas para el tratamiento E2 con un GH del 11.7%, sin embargo, la máxima inhibición obtenida para ese tratamiento, a una concentración de 10 mg/mL, fue del 14.8%; en su estudio también mencionan que la actividad antioxidante depende de las condiciones de hidrólisis o el tipo de enzima utilizada, no obstante el tiempo de hidrólisis es otro factor a considerar, pues el proceso lo llevaron a cabo por 30 min, un tiempo mucho menor a las 3 h utilizadas para la producción de los hidrolizados de músculo de sardina.

Ensayo DPPH

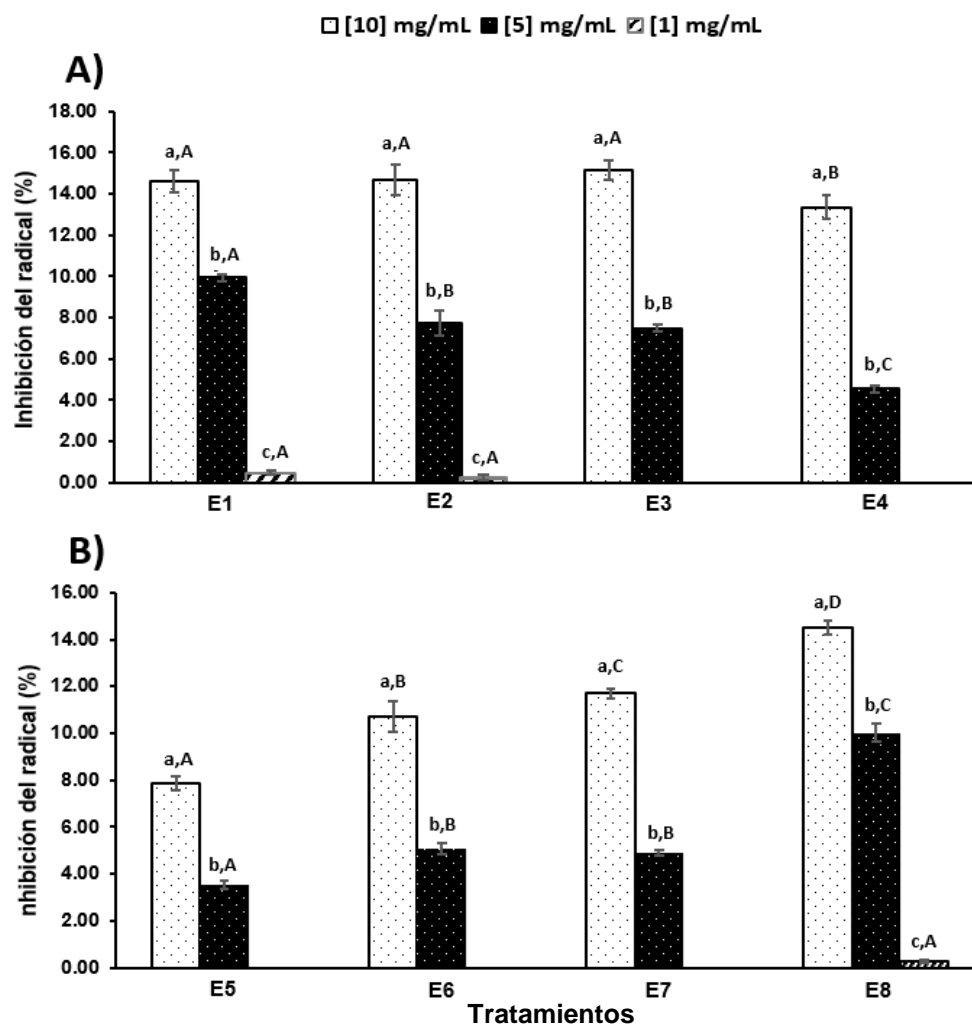


Figura 3. Efecto de la capacidad inhibitoria del radical DPPH de los hidrolizados de músculo de sardina crinuda a diferentes concentraciones (A, CE= 3% y B, CE=1%). Barras de error indican desviación estándar (n=3). Letras diferentes en el mismo hidrolizado indican diferencia significativa ($p<0.05$) y diferentes letras mayúsculas indican diferencia significativa ($p<0.05$) entre hidrolizados.

Al respecto, Samaranayaka y Li-Chan (2011) y Sarmadi e Ismail (2010) señalan que una hidrólisis extensiva de la proteína da como resultado una disminución de la capacidad antioxidante, por tanto, durante tiempos prolongados los péptidos que se generan se seguirán hidrolizando mientras dure el proceso, obteniendo mayor cantidad de aminoácidos libres, los cuales de manera general no son efectivos como antioxidantes, por lo que un elevado grado de hidrólisis puede disminuir la actividad antioxidante de los hidrolizados proteicos. Por otra parte, Foh *et al.*, (2010) utilizaron condiciones de hidrólisis similares (pH: 8 y T=50 °C) usando la enzima Alcalasa a una concentración del 1% por un tiempo de 120 min., obteniendo un GH del 23%, con base en lo anterior lograron la inhibición del radical DPPH en un 86.6% a una concentración de 5 mg/mL de hidrolizado de músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*). A esa misma concentración de hidrolizado de músculo de sardina crinuda el porcentaje de inhibición no rebasó el 10% en ningún tratamiento, entre los cuales el máximo GH fue del 12.7%. Lo anterior pudiera indicar que, más allá del GH final, la duración del periodo de tiempo en que se alcanza dicho GH pudiera afectar a los péptidos con actividad antioxidante, debido a que los péptidos antioxidantes pueden perder actividad al encontrarse expuestos en un medio muy alcalino o ácido, por lo que dicho efecto se ve incrementado con el tiempo (Hou *et al.*, 2014). En la Figura 3B, se muestran los diferentes hidrolizados obtenidos con una CE=3%. El tratamiento E8 fue el que exhibió el mayor porcentaje de inhibición en todas las concentraciones evaluadas, teniendo un máximo de 14.5% para la más alta. Se logro ver una tendencia más marcada entre los tratamientos y en las diferentes concentraciones evaluadas. Con base en el GH, tal comportamiento podría describirse. A mayor GH, el porcentaje de inhibición del radical DPPH fue disminuyendo, dicho efecto puede ser explicado con lo descrito anteriormente por Samaranayaka y Li-Chan (2011) y Sarmadi e Ismail (2010), donde la actividad antioxidante se ve afectada por el GH. Al comparar el grado de hidrólisis entre los tratamientos, se observa una diferencia muy marcada entre los que se usó una CE del 1% respecto a los del 3%, siendo mayor en éstos últimos. Sin embargo, esos valores altos de GH no se traducen en una mayor inhibición del radical DPPH, por el contrario, se obtuvieron menores porcentajes de inhibición en tratamientos donde se aplicó una CE de 3% (Klompong *et al.*, 2007).

CONCLUSIONES

- La composición proximal del músculo de sardina crinuda (*Ophistonema* spp.) mostró tener un alto contenido de proteína, por lo que se vuelve conveniente para su uso en la producción de hidrolizados proteicos.
- El pH, la temperatura y la concentración de enzima son parámetros que ejercen un efecto positivo en el incremento del GH durante el proceso hidrolítico de la proteína del músculo de sardina “crinuda”.
- Se observó un efecto inversamente proporcional de la inhibición del radical DPPH respecto al aumento del grado de hidrólisis debido a hidrólisis extensiva de los péptidos.

LITERATURA CITADA

- AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., USA.
- AOAC. (2012). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C., USA.
- Adler-Nissen, J. (1986). Enzymic hydrolysis of food proteins (pp. 427). London: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K. y Wanasundara, U. (2010). Handbook of seafood quality, safety and health applications. Capítulo 42, pp. 518.
- Balogun, A. (1985). Proximate analysis of the flesh and anatomical weight composition of skipjack tuna (***Katsuwonus pelamis***). Food Chemistry, 17:117-123.
- Benítez, R., Ibarz, A. y Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 42:227-36.
- Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y. y Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. Food Chemistry. 1198–1205.
- Calvo, A. (2014). Desarrollo y aplicación de sensores y biosensores electroquímicos para la determinación de contaminantes medioambientales y agroalimentarios. Tesis de doctorado. Universidad de Burgos. Pag. 25-26.
- Chabeaud, A., Dutournie, P., Guérard, F., Vandanjon, L. y Bourseau, P. (2009). Application of Response Surface Methodology to Optimise the Antioxydant Activity of a Saithe (*Pollachus Virens*) Hydrolysate. Marine Biotechnology, 11:445-455.
- Foh, M., Kamara, M., Amadou, I., Foh, B. y Wenshui, X. (2011). Chemical and physicochemical properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysates and concentrate. International Journal of Biological Chemistry, 5, 21–36.
- Elavarasan, K., Naveen K. y Shamasundar, B. (2014). Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. Journal of Food Processing and Preservation. 38:1207–1214.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2011). Fisheries Topics: Statistics. [Http://www.fao.org/fishery/topic/2017/es](http://www.fao.org/fishery/topic/2017/es). Fecha de consulta 23 de octubre del 2015.
- Galla, N., Pamidighantam, P., Akula, S. y Karakala, B. (2012). Functional properties and *in vitro* antioxidant activity of roe protein hydriylsates of *Channa striatus* and *Labeo rohita*. Food Chemistry, 135(3), 1479-1484.
- Harnedy, A., y Fitzgerald, R. (2012). Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. Journal of Functional Foods, 6-24.
- Holt, S. (1975). Los recursos alimenticios del océano. Madrid: Oceanografía: Scientific American, 400-414.
- Hou, Y., Zhou, J., Liu, W., Cheng, Y., Wu, L. y Yang, G. (2014). Preparation and Characterization of Antioxidant Peptides from Fermented Goat Placenta. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 34(6), 769–776.
- Jacob-Cervantes, M. (2010). La pesquería de peces pelágicos menores en el sur del golfo de California. Análisis de la temporada de pesca 2008. Ciencia Pesquera, 18(2):47-58.

- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D. y Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food chemistry*, 102:1317-1327.
- Li, X., Luo, Y., Shen, H. y You, J. (2012), Antioxidant activities and functional properties of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) protein hydrolysates. *Jorunal of the Science of Food and Agriculture*, 92:292–298
- Maz Sardina. (2015). Libros de registro de captura de las temporadas 2000 – 2014. Grupo MazIndustrial. Mazatlán, Sinaloa.
- Moura, M., Galvao, J., Henrique, C., Da Silva, L. y Oetterer, M. (2009). Physical-chemical and freshness characterization of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets from extractive catching in the Medium Tiete river/SP, Brazil. *INST PESCA*, 35:487-495.
- Samaranayaka, A. y Li-Chan, E. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 229-254.
- Sarmadi, B. e Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 31(10), 1949-1956
- Su, M., Liu, J., Li-Hsin, S. y Ching, H. 2015. Anti-oxidative responses of zebrafish (*Danio rerio*) gill, liver and brain tissues upon acute cold shock. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 187: 202-213
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S. y Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using alcalase and flavourzyme. *Journal of Food Biochemistry*, 31(2):266–287.
- Valls, J. y Paredes, A. (2010). Caracterización física y química de la sardina (*Sardinella aurita*). *Revista Ciencia*, 5:546-554.
- Yarnpakdee, S., Benjakul, S., Kristinsson, H. y Kishimura, H. (2015). Antioxidant and sensory properties of protein hydrolysate derived from nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by one- and two-step hydrolysis. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6):3336-3349.

PREVALENCIA DE *Salmonella* spp. DURANTE EL CICLO PRODUCTIVO, TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE CERDOS EN RASTRO PROCEDENTES DE GRANJA EN CULIACÁN, SINALOA

Alberto Garfio Romero ¹, Gabriela Silva Hidalgo¹, Felipe Juárez Barranco¹, Héctor Samuel López Moreno², José Guadalupe Rendón Maldonado². Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa, ¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, agarfio571@gmail.com, ²Facultad de Ciencias Químico-Biológicas.

RESUMEN

Salmonella es una bacteria que pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae* y es un patógeno de importancia médica para animales de producción y seres humanos. Las infecciones por *Salmonella* son causadas por el consumo de alimentos de origen animal contaminados y pueden provocar enteritis aguda o bien fiebre tifoidea sistémica. La mayoría de los casos de salmonelosis son leves, sin embargo en algunos casos, particularmente niños pequeños y ancianos, la deshidratación causada por la enfermedad puede ser grave y poner en riesgo la vida del paciente. El aislamiento de *Salmonella* spp. en unidades de producción porcina en diferentes etapas del ciclo productivo abarcan desde el 3% hasta el 33% de acuerdo al sistema de producción. El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. durante el ciclo productivo, transporte y procesamiento de cerdos en rastro, en una granja de Culiacán Sinaloa. Los resultados de prevalencia de las diferentes áreas (excremento en gestación, maternidad, destete, engorda, corral de reciba en planta de sacrificio, ileon, linfonodos mesentéricos y fauna nociva) son de 10.57% de prevalencia y de estos el 95.87% se confirmó el género bacteriano mediante la amplificación del gen *invA*, por Reacción en Cadena de la Polimerasa. El gen *invA* es un factor de virulencia relacionado con la capacidad de facilitar el ingreso de la bacteria en células epiteliales. También se lograron identificar 10 serovares diferentes (Grupo E1, Grupo C1, Grupo C2, Untipable, Javiana, Seftenberg, Anatum, Tokoin, Newport, Typhimurium). Palabras clave: *Salmonella*, porcino, serovares, *invA*.

ABSTRACT

Salmonella is a bacterium that belongs to the family *Enterobacteriaceae* and is a pathogen of medical importance for production animals and humans. *Salmonella* infections are caused by the consumption of contaminated animal foods and can cause acute enteritis or systemic typhoid fever. Most cases of salmonellosis are mild, however in some cases, particularly small children and the elderly, dehydration caused by the disease can be serious and endanger the patient's life. The isolation of *Salmonella* spp. in pig production units in different stages of the production cycle they range from 3% to 33% according to the production system. The objective of the present work was to determine the prevalence of *Salmonella* spp. during the productive cycle, transport and processing of pigs on the trail, in a farm in Culiacán Sinaloa. The prevalence results of the different areas (excrement in gestation, maternity, weaning, fattening, receiving pen in slaughter plant, ileum, mesenteric lymphnodes and harmful fauna) are of 10.57% prevalence and of these 95.87% confirmed the bacterial

genus by amplification of the *invA* gene, by Polymerase Chain Reaction. The *invA* gene is a virulence factor related to the ability to facilitate the entry of bacteria into epithelial cells. We also managed to identify 10 different serovars (Group E1, Group C1, Group C2, Untipable, Javiana, Seftenberg, Anatum, Tokoin, Newport, Typhimurium). Key words: *Salmonella*, porcine, serovars, *invA*.

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es considerada un problema de salud pública mundial y es una de las causas más importantes de gastroenteritis en los seres humanos causado por el consumo de productos de origen porcino, bovino y aviar (Zaidi y cols., 2006; Arcos y col., 2013). El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos anaeróbicos facultativos, gram negativos, generalmente móviles, no forman esporas y con flagelos peritricos. Sobreviven durante largos periodos de tiempo en materia fecal y durante más de 20 semanas en sedimento (barro, lodo, fango, etc.) logran sobrevivir también de canales y estanques durante años al igual que en harinas de carne y en la circulación sanguínea (Sanderson y Satheesh, 2013; Flores, 2014).

Salmonella se divide en dos grandes especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*, a su vez *Salmonella enterica* se divide en seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*, se reconocen más de 2500 serovares, de los cuales 23 pertenecen a la especie *Salmonella bongori*, y el resto a *Salmonella enterica* (Sanderson y Satheesh, 2013). El 99% de las infecciones por *Salmonella* en seres humanos y animales corresponden a *Salmonella enterica* subespecie *enterica*, dentro de esta subespecie se identifica *Salmonella* tífica y no tífica, las no tíficas afectan a seres humanos y animales, mientras que las tíficas afectan sólo al ser humano (kankwatira y cols., 2004; Maclennan y cols, 2008).

La población más susceptible de padecer salmonelosis son infantes menores de cinco años, adultos mayores y personas inmunocomprometidas (Lu y cols., 2012; Terzolo, 2012). Para el desarrollo de la enfermedad es necesario un ambiente adecuado para su establecimiento, replicación y expresión de sus factores de virulencia, los cuales permitirán a la bacteria sobrevivir a los diferentes cambios que se enfrenta al entrar al hospedero como por ejemplo: cambio de pH, aumento de la temperatura, baja tensión de oxígeno y alta osmolaridad y responde a estos cambios modulando la expresión de sus genes que le permitirán a la bacteria adherirse e invadir la células del huésped (Lu y cols., 2012; Terzolo, 2012).

Salmonella presenta múltiples genes involucrados en la invasión, localizados en el centisoma 63 que forman la isla de patogenicidad 1 (SPI-I); se trata de un segmento de 35-40 kb que contiene 31 genes que pueden ser divididos en categorías que incluyen: genes que codifican el sistema de secreción tipo 3 (SSTIII), que codifican proteínas involucradas en la translocación de moléculas efectoras dentro del citoplasma de la célula hospedero y genes que codifican proteínas efectoras (Sanderson y Satheesh, 2013).

La salmonelosis es una enfermedad bacteriana importante, debido a esta importancia la mayoría de los programas de vigilancia de *Salmonella* se basan en ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para una detección rápida y precisa (Kasturi y Dragon, 2017). Entre estas herramientas moleculares, el ensayo de PCR para amplificar el gen *invA* ha sido aceptado como el método convencional para la detección de *Salmonella* (Truitt y cols., 2008). Este método fue propuesto como una herramienta estándar internacional para la detección precisa de este patógeno (Malorni y cols., 2003)

Las infecciones por *Salmonella* usualmente se adquieren por vía oral, algunos de los microorganismos ingeridos invaden los enterocitos y las células M de la mucosa intestinal, y en la submucosa es fagocitada por macrófagos fijos, mismos que mueren vía Caspasa 1 y la bacteria ahora libre de su ambiente intracelular, se disemina en el torrente sanguíneo, entrando directamente a los vasos sanguíneos o bien a través de vasos linfático y linfonodos mesentéricos (Silva y cols., 2012)

Existen diversas publicaciones en las que se ha logrado aislar a *Salmonella* en diferentes etapas de producción en granjas porcinas, además se ha informado del aislamiento de *Salmonella* en la canal de los cerdos, linfonodos mesentéricos, tonsilas, utensilios para el procesamiento de la canal como cuchillos, ganchos y las propias instalaciones del rastro. (Arcos y cols., 2103; Pastrana y cols., 2014; Salvatierra y cols., 2015; Verbrugge y cols., 2015)

Salvatierra y cols (2015) determinaron la frecuencia de *Salmonella* mediante hisopados sobre la piel de la cabeza, vientre, lomo y pierna de cerdos destinados para abasto, provenientes de 300 granjas, en Lima Metropolitana, Perú. El mayor porcentaje de aislamiento se obtuvo de la piel de la cabeza (33%), y vientre (33%). Los aislamientos fueron serotipificados identificado *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Derby.

Un estudio realizado por Zaidi y cols (2006) durante el periodo 2003-2005 colectaron 2893 muestras fecales de pacientes con diarrea. 5334 muestras de carne de pollo, cerdo y res, y 1882 muestras de intestinos de pollo, cerdo y bovino en rastros, se aisló *Salmonella* no-Typhi en el 12% de los pacientes, los serovares encontrados fueron Typhimurium y Enteritidis, la primera se encontró en los tres tipos de animales y sus carnes crudas, siendo en cerdo el principal reservorio, seguido por bovino y pollo.

Arcos y cols (2013) obtuvieron una prevalencia de 4.3% de *Salmonella* spp. en carne de cerdos y ambientes de 6 rastros y 14 expendios en el departamento de Tolima en Colombia.

Zaidi y cols (2006) demuestran mediante la técnica de electroforesis en campo pulsado, que las cepas de *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis aisladas de niños con diarrea en el estado de Yucatán, eran genéticamente idénticas o muy relacionadas con aquellas aisladas de las carnes crudas.

De acuerdo a los informes de investigaciones recientes y debido al grave problema de salud pública que representa la salmonelosis, el objetivo de este trabajo es: Determinar la prevalencia de *Salmonella* spp. durante el ciclo productivo, transporte y procesamiento de cerdos en rastro.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Salmonella es uno de los agentes más frecuentemente aislados en casos de gastroenteritis de origen alimenticio, en Europa 73 de cada 100 000 habitantes han sido declarados con infección por *Salmonella*, con importantes variaciones entre países en función al método de diagnóstico, registro de información y hábitos culinarios de cada país, en México se desconocen las estadísticas nacionales precisas de infecciones por *Salmonella*, se estima alrededor de 15 000 casos al año por fiebre tifoidea. Con frecuencia el medico hace un diagnóstico basándose en el cuadro clínico del paciente, pero sin contar con los estudios microbiológicos necesarios para establecer un diagnóstico certero. Por lo que respecta la industria porcina, la contaminación de la carne por *Salmonella* se puede producir en cualquier etapa de la cadena de producción desde la elaboración de concentrados para la alimentación hasta la elaboración de productos cárnicos. Debido al incremento considerable de casos de infecciones intestinales causados por el consumo de alimentos contaminados con *Salmonella* y que en las explotaciones porcinas no es común que se manifieste la enfermedad como septicemias o enterocolitis, pero si existen infecciones en cerdos asintomáticos que representan una fuente de infección para los seres humanos, a través de la contaminación de productos de origen porcino, es de suma importancia el estudio de la prevalencia de la bacteria en las diferentes etapas de producción, así como el estudio de genes que le confieren a la bacteria sobrevivir a diferentes condiciones medioambientales, y evadir el sistema inmunológico logrando sobrevivir en células como macrófagos y enterocitos de porcinos.

Además del impacto de la enfermedad en la salud pública, su repercusión económica en el ciclo productivo de origen porcino es relevante debido a la mortalidad de cerdos por la forma sistémica y por el retraso del crecimiento de los animales que padecen la forma entérica de la enfermedad.

HIPÓTESIS

Existe la presencia de *Salmonella* spp. durante el ciclo reproductivo, transporte y procesamiento de cerdos en rastros.

OBJETIVO GENERAL

Determinar prevalencia de *Salmonella* spp. durante el ciclo productivo, transporte y procesamiento de cerdos en rastro.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar prevalencia de *Salmonella* spp. En etapas de gestación, maternidad, destete, engorda, embarque, desembarque y rastro.

Corroborar el género bacteriano a través de la amplificación del gen *invA*.

Identificar los serovares de *Salmonella* aislados de las diferentes áreas.

Identificar *Salmonella* por histopatología de ganglios mesentéricos e ileon.

Establecer la relación epidemiológica-molecular de los aislamientos bacterianos obtenidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamiento bacteriano: se recolectaron 227 muestras de heces fecales de diferentes camadas de cerdos desde el nacimiento hasta rastro (obtención de íleon y linfonodo mesentérico), para determinar la presencia de *Salmonella* spp. a través de aislamiento bacteriano que se llevó a cabo a partir de materia fecal, agua de charcas, agua de bebederos, alimento ofrecido a los animales, fauna nociva (cucarachas, moscas, ratas) y tejidos una vez que se encuentren en rastro. Se tomaron aproximadamente 40 gramos de materia fecal, 150 mililitros de agua de charcas y agua de beber y 40 gramos de alimento. Las muestras se depositarán en frascos estériles de boca ancha previamente identificados. Se trasladaron al Laboratorio de Patología molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. El aislamiento se realizó en el siguiente orden: caldo Tetrionato, caldo Rappaport Vassiliadis y Agar XLT₄ de acuerdo a la metodología utilizada por Losinger y cols., 1997. Amplificación del gen *invA*: A las cepas aisladas se les extrajo el ADN bacteriano, para utilizando una matriz comercial (Instangen matrix Biorad®). La extracción de ADN de las cepas bacterianas se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La confirmación del género bacteriano se realizó mediante la amplificación del gen *invA*, para la amplificación por PCR se utilizaron los siguientes oligonucleótidos: *invA* 1 5'-TGC CTA CAA GCA TGA ATT GG -3' e *invA*-2 5'-AAA CTG GAC CAC GGT GAC AA3' que amplifican una región de 284 pares de bases (pb) (Galán y cols., 1992). Se utilizó como testigo positivo ADN de una cepa de referencia de *S. Typhimurium* 14028S procedente de la ATCC (del inglés American Type Culture Collection). Identificación de los serovares aislados: La serotipificación se realizó a partir de colonias bacterianas aisladas y confirmadas bioquímicamente en el centro de investigación epidemiológica de sinaloa (CIES) mediante el esquema de Kauffman-White. Relación epidemiológica-molecular de los aislamientos bacterianos obtenidos: Para establecer la relación epidemiológica-molecular de los aislamientos bacterianos se realizó mediante digestión de la enzima de restricción *Xba* I y electroforesis en campo pulsado, utilizando el sistema de CHEF-DR III a 6V/cm durante 18 horas con pulsaciones cada 10-30 segundos, después el gel se tiñe con bromuro de etidio y se analiza en un fotodocumentador GelDoc XR. Análisis estadístico, se determina la frecuencia de aislamientos bacterianos de acuerdo a la fórmula citada por Thursfield. La similitud entre las muestras se estima por coeficiente de Jaccard (JC), este coeficiente expresa la porción de fragmentos de ADN compartidos entre dos perfiles genéticos y se calcula empleando la siguiente fórmula: $JC_{xy} = a / (a+b+c)$, donde (a) es igual al número de bandas comunes a los dos perfiles, (b) es igual al número de bandas presente en x pero no en y, (y) es igual al número de bandas presentes en y pero no

en x. A partir de la matriz, se generará el «cluster» empleando el método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average), que finalmente se expresa en forma de dendrograma. Aquellos aislamientos con JC mayor a 0.75 se considerarán pertenecientes a la misma clona bacteriana.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados de prevalencias por áreas muestreadas de la granja y órganos obtenidos en rastro.

Resultados aislamiento bacteriano (primer seguimiento) octubre - marzo		
Muestra		Prevalencia %
Gestación (heces)	2 de 5	40
Maternidad (heces)	3 de 8	37.5
Maternidad (heces de lechones)	1 de 3	33.3
Destete (heces)	0 de 9	0
Engorda (heces)	1 de 9	11.11
Embarque (heces)	0 de 11	0
Desembarque (heces)	1 de 4	25
Íleon	6 de 27	22.22
Linfonodo mesenterico	0 de 24	0
Fauna nociva (cucaracha)	1 de 3	33
Heces de roedor	1 de 2	50
Agua de charca de enfriamiento	0 de 4	0

Resultados aislamiento bacteriano (segundo seguimiento) febrero - agosto		
Muestra		Prevalencia %
Gestación (heces)	0 de 12	0
Maternidad (heces)	0 de 19	0
Maternidad (heces de lechones)	0 de 8	0
Destete (heces)	1 de 13	7.69
Engorda (heces)	0 de 8	0
Embarque (heces)	0 de 5	0
Desembarque (heces)	0 de 3	0
Íleon	7 de 21	33.33
Linfonodo mesenterico	0 de 21	0
Fauna nociva	0 de 1	0
Heces de roedor	0 de 3	0
Agua de charca de enfriamiento	0 de 4	0

Prevalencia total (primer y segundo seguimiento)	24 de 227	10.57%
--	-----------	--------

Tabla 1. Porcentajes de *Salmonella* spp. por áreas y porcentaje total de muestras analizadas. Los aislamientos se realizaron a partir de heces fecales, agua, alimento, fauna nociva de la granja y de tejidos como íleon y linfonodos mesentéricos.

En la siguiente tabla (tabla 2) se muestran los diferentes serovares obtenidos mediante el esquema de Kauffman-White.

Serovar	Porcentaje de aislamiento	Fuente de aislamiento
Anatum	42.85%	Maternidad (heces de lechones)
		Heces de roedor
		Engorda (heces)
		Desembarque (heces)
		Íleon
Seftenberg	9.52%	Maternidad (heces)
		Íleon
Untipable	4.76%	Gestación (heces)
Javiana	4.76%	Gestación (heces)
Tokoin	4.76%	Gestación (heces)
Newport	4.76%	Destete (heces)
Typhimurium	4.76%	Íleon
Grupo C2	4.76%	Maternidad (heces)
Grupo E1	14.2%	Cucaracha (area maternidad)
		Íleon
		Íleon
Grupo C1	4.76%	Íleon

Tabla 2.

Serovares obtenidos a partir de aislamientos de *Salmonella* spp. de acuerdo al esquema de Kauffman-White. Se muestran los porcentajes por serovar y el lugar de donde se obtuvo la muestra.

La salmonelosis es una enfermedad de importancia en el mundo que presenta una elevada morbilidad entre personas y animales principalmente por gastroenteritis (Junod y col., 2013). Algunas especies de *Salmonella* infectan a los animales participando como reservorios, pero no causan enfermedad en ellos, por lo tanto representan un potencial para la transmisión al humano, animales domésticos, aguas y alimentos, en el caso de los cerdos la contaminación puede ocurrir en cualquier etapa de producción y permanecer en todo el ciclo productivo como portador asintomático, diseminando el microorganismo por medio de sus excretas y resultando en una canal visualmente sana, que puede ser fuente de contaminación de otras canales y finalmente llegar la infección al hombre (Pastrana y col., 2014).

La incidencia de la salmonelosis de origen alimentario ha aumentado considerablemente desde la década de ochentas, en el mundo industrializado a alcanzado proporciones epidémicas en varios países. En México se han encontrado porcentajes elevados de contaminación en la carne de cerdo.

En el presente estudio se ha aislado *Salmonella* a partir de heces mediante cultivo en áreas como gestación, maternidad, destete, íleon y linfonodos mesentéricos resultados que coinciden con lo informado por Zaidi y col. (2006), Talavera y col. (2007); Salvatierra y cols. (2015) que aislaron *Salmonella* a partir de heces de cerdos en las diferentes etapas de producción de la granja.

Estudios realizados por Méndez (2005) y Gómez (2015) informan de prevalencia de *Salmonella* spp. a partir de materia fecal en cerdos de 76% y 21.23% respectivamente, dichos resultados difieren con lo encontrado es esta investigación donde se informó el 10.57%, la diferencia marcada en porcentajes en los diferentes estudios en comparación con el realizado en este trabajo se debe al sistema de producción, ya que dichos porcentajes corresponden a explotaciones de traspatio donde los sistemas preventivos y de manejo para el control de enfermedades es escaso.

Calvete y col. (2015), realizaron una investigación en Buenos Aires donde se analizaron 200 muestras correspondientes a las diferentes etapas de producción y obtuvieron una prevalencia de 3.37%, resultados que no fueron similares a los obtenidos en este estudio.

De los aislamientos bacterianos informados por Calvete y col. (2015), el 100% de estos amplificaron por Reacción en Cadena de la Polimerasa un fragmento del gen *invA* que es un factor de virulencia codificado en la isla de patogenicidad 1 (IPS1) y está relacionado con la capacidad de ingresar a la bacteria en las células epiteliales, estos resultados coinciden por lo informado esta investigación, donde de los aislamientos bacterianos obtenidos el 95.83% amplificó el gen *invA*.

En Culiacán Sinaloa en un estudio de tesis de licenciatura por Velázquez y Col. (2017) se analizaron 298 muestras provenientes de heces de una granja porcina en las diferentes etapas de producción, informando una frecuencia de aislamientos bacterianos de 3.35% y determinaron la presencia del gen *invA* en el 100% de los aislamientos, estos resultados son similares con lo encontrado hasta el momento en esta investigación.

CONCLUSIONES

Se tienen resultados de prevalencias bacteriana a partir de heces de cerdos en las áreas de maternidad, gestación, destete, engorda, estancia en planta de sacrificio, íleon, linfonodo mesentérico y fauna nociva, que corresponde a 10.57%, y el resultado para la confirmación del género bacteriano a partir de los aislamientos bacterianos evidenciando la presencia del gen *invA* corresponde al 95.83%, y se lograron identificar 10 serovares diferentes (Grupo E1, Grupo C1, Grupo C2, Untipable, Javiana, Seftenberg, Anatum, Tokoin, Newport, Typhimurium).

LITERATURA CITADA

Arcos E.C.A., Mora L.C., Fandiño Luz C. de R. Rodón I.S.B. 2013. Prevalencia de *Salmonella* spp. en carne porcina, plantas de beneficio y expendios del Tolima. Universidad

del Tolima, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia –Departamento de Sanidad Animal; Grupo de Investigación en Inmunología y Patogénesis.

Flores R.C. 2014. La salmonelosis porcina y su importancia en la cadena de producción. IVIS. CENID Microbiología Animal, INIFAP, México.

Junod, T., López, J., Gädicke, P., (2013). Antimicrobial susceptibility of animal and food isolates of *Salmonella* Enterica. Revista médica de Chile. 141 (3): p 298 - 304.

Kasturi K.N, Drgon T. 2017. Real-time PCR method for detection of *Salmonella* spp. in environmental samples. Appl Environ Microbiol.83(14). doi: 10.1128/AEM.00644-17

Malorny B., Hoorfar J., Bunge C., Helmuth R. 2003. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: Towards an international standard. Appl Environ Microbiol. 69(1):290–6. doi: 10.1128/AEM.69.1.290-296.

Pastrana A. del P.C., Mogollón J.D.G., Rincón M.A. 2014. La salmonelosis porcina y su importancia en la cadena de producción. Los Porcicultores y su Entorno N° 81, BM Editores.

Salvatierra G.R., Pinto C., Inga E., Siuce J. 2015 DETECTION OF *SALMONELLA* SP IN PORK CARCASSES IN SLAUGHTERHOUSES IN LIMA, PERU. Rev Inv Vet Perú 2015; 26(4): 682-688

Silva G, López HS. 2012. Genes involucrados en la patogénesis, persistencia y excreción de *Salmonella* en modelos animales. Rev Colomb Cienc Pecu 2012;25:107-122

Truitt L.N., Vazquez K.M., Pfuntner R.C., Rideout S.L., Havelaar A.H., Strawn L.K. 2018. Microbial quality of agricultural water used in produce preharvest production on the Eastern Shore of Virginia. J Food 81(10):1661–72. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-18-185

Verbrugghe E., Parys A.V., Leyman B., Boyen F., Haesebrouck F., Pasmans F. 2015. HtpG contributes to *Salmonella* Typhimurium intestinal persistence in pigs. Verbrugghe *et al. Vet Res* (2015) 46:118 DOI 10.1186/s13567-015-0261-5

Talavera R.M, Vázquez C.J.C, Flores B.R, Robles G.F, Lagunas B.S, Alonso F.M.U. 2007. *GyrA* gene mutations and fluoroquinolone resistance in *Salmonella* isolates from pigs in central Mexico. (160):630-632.

Zaidi M.B., Macías C.L., Calva E. 2006. Estudios mexicanos sobre *Salmonella*: epidemiología, vacunas y biología molecular. Revista Latinoamericana de microbiología. Vol. 48. No. 2

Zaidi M.B., McDermott P.F., Fedorka-Cray V., León C. Canché., Hubert S.K., León A.M., Zhao S.M., Tollefson L.H. 2006. Non-typhoidal *Salmonella* from human clinical cases, asymptomatic children, and raw retail meats in Yucatan, Mexico. Clin. Infect. Dis. 42:21-28.

CARACTERISTICAS DE LA CANAL Y CORTES PRIMARIOS DE OVINOS FINALIZADOS CON DIETAS ADICIONADAS DE ACEITES ESENCIALES

Jessica Berenice Zúñiga Villegas

MVZ Jessica Berenice Zúñiga Villegas¹, Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez², Dr. Francisco Gerardo Ríos Rincón², Dr. Jesús José Portillo Loera², Dr. Alfredo Estrada Angulo², Dr. Jesús David Urías Estrada²

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UAS; jessica.zuniga.fmvz18@uas.edu.mx, ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UAS

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar las características de la canal y cortes primarios de ovinos alimentados con dietas adicionadas de aceites esenciales se realizará una prueba de comportamiento productivo con una duración de 70 días (14 días de adaptación + 56 de alimentación). Para el experimento se recibirán 42 borregos machos enteros Pelibuey X Katahdin con un peso vivo promedio de 28 kg. A su llegada, los animales se les asignaran a 21 corraletas (7 corrales por tratamiento) bajo un diseño de bloques completos al azar, tomando el peso inicial como criterio de bloqueo. Los tratamientos serán 1) Dieta basal de finalización, 2) Dieta basal de finalización + Monensina sódica, 3) Dieta basal de finalización + mezcla de aceites esenciales. Se realizarán pesajes los días 0-28-56, posteriormente se procederá al sacrificio de los mismos. Los animales serán trasladados al rastro municipal siguiendo las indicaciones de ayuno especificadas en la NOM-009-ZOO-1994. Previo al sacrificio se registrará el peso individual de la canal caliente; y las canales se conservarán en cuarto frío (2°C) durante 24 hr, transcurrido el tiempo de refrigeración, se registrará el peso de la canal fría; se trasladaran las canales a la FMVZ-UAS y posteriormente se evaluarán las características de la canal y cortes primarios en la sala para cortes.

Palabras claves: aditivo natural, borregos, nutrición, carne, estabilizador ruminal.

ABSTRACT

In order to evaluate the carcass characteristics and primary cuts of sheep fed with diets supplemented with essential oils, a productive response trial will be carried out with a duration of 70 days (14 days of adaptation + 56 of feeding). For the experiment we will receive 42 Pelibuey X Katahdin whole male sheep with an average live weight of 28 kg. Upon arrival, the animals will be assigned to 21 corraletas (7 pens per treatment) under a randomized complete block design, taking the initial weight as blocking criteria. The treatments will be 1) basal diet, 2) basal diet + Monensin sodium, 3) basal diet + mixture of essential oils. Weighing will take place on days 0-28-56, afterwards they will be slaughtered. The animals will be transferred to the municipal trail following the fasting instructions specified in NOM-009-ZOO-1994. Before the sacrifice, the individual weight of the hot carcass shall be recorded; and the carcasses will be refrigerated (2 ° C) during 24 h, after the cooling time, the

weight of the cold carcass will be recorded, will be moved to the FMVZ-UAS and afterwards the carcass characteristics and primary cuts in the cutting room will be evaluated.

Keywords: natural additive, sheep, nutrition, meat, ruminal stabilizer.

INTRODUCCIÓN

Los costos de alimentación representan del 45 al 60% de los costos de producción de carne en los sistemas basados en confinamiento; por lo tanto, el aumento de la eficiencia en los sistemas de alimentación es un factor importante para la rentabilidad de las explotaciones (Hernández-Sarabia et al., 2012), el uso de aditivos alimenticios en las dietas de crecimiento-finalización es una práctica común en los corrales de engorda. Su utilización tiene varios propósitos, entre ellos, la mejora del comportamiento productivo y de la salud, o bien la mejora de las características del producto final (Plascencia, 2015). Los aditivos para la alimentación animal son tan numerosos y heterogéneos que es difícil hacer una definición precisa. De acuerdo a la NOM-061-ZOO-1999 Especificaciones zoonosanitarias de los productos alimenticios para consumo animal, un aditivo se define como “Cualquier material de uso específico que se incluya en el alimento que favorezca su presentación, preservación, así como la ingestión, aprovechamiento, profilaxis o pigmentación en los animales y sus productos” (SENASICA, 2000). Existen distintas clasificaciones para los aditivos que se utilizan en la alimentación animal. En los lineamientos establecidos en los reglamentos de la Unión Europea para los aditivos se maneja la siguiente clasificación: 1) aditivos tecnológicos, 2) aditivos organolépticos, 3) aditivos nutricionales, 4) aditivos zootécnicos y 5) coccidiostáticos e histomonóstatos. Actualmente, los ionoforos (particularmente monensina) están incluidos en la mayoría de los programas de alimentación convencionales en corral de México y Estados Unidos. Alimentar a los rumiantes con monensina produce una mejora en la eficiencia de la alimentación (Moody et al., 2011) como consecuencia de un cambio en los patrones de fermentación ruminal hacia el aumento de propionato y la disminución de las proporciones molares de acetato (Bergen y Bates, 1984, Rusell y Strobel, 1988) y por la reducción de la degradación de proteínas en el rumen aumentando el flujo N amoniacal al duodeno (Zinn, 1988). Sin embargo, en la actualidad la principal preocupación de los consumidores está relacionada con la práctica de la industria ganadera con el uso de antibióticos en las formulaciones de alimento para el ganado, esto ha incrementado las preocupaciones de los consumidores hacia la carne y productos cárnicos más saludables y la demanda de aditivos naturales para alimentos. Algunas plantas producen y almacenan compuestos secundarios que ejercen actividades beneficiosas en el organismo humano y animal. En lo que se refiere a su uso en alimentación animal, constituyen una alternativa natural a los aditivos antibióticos promotores del crecimiento, cuyo uso en rumiantes se ha centrado fundamentalmente en sus efectos sobre la fermentación ruminal (Carro *et al.*, 2014). Existe un gran número de compuestos secundarios que pueden utilizarse como aditivos en la alimentación de los rumiantes, pero entre ellos destacan las saponinas, los taninos y los aceites esenciales (Carro *et al.*, 2014). El uso de compuestos de aceites esenciales (tales como timol, limoneno, eugenol, piperina, entre otros) presentan una actividad antimicrobiana principalmente de bacterias Gram positivas y negativas, mediante la interacción de estos aceites con la membrana citoplasmática de las bacterias, además,

poseen propiedades antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias y antimicóticas, también se ha observado que estimulan enzimas digestivas y dan mejor sabor a los alimentos (Dorman y Deans, 2000).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los sistemas de producción animal estarán sometidos cada vez más a restricciones gubernamentales y al escrutinio público. La influencia de los consumidores, la protección medioambiental y la salud pública seguirá siendo mayor (Ravindran V., 2010). El impacto de los aspectos sociales (antibióticos en los alimentos, el medio ambiente, el bienestar, la trazabilidad, las harinas de origen animal, los organismos genéticamente modificados, etc.) influirá en la toma de decisiones desde el nivel de la granja hasta la distribución de productos de origen animal (Leeson, 2007). Los animales que se encuentran en la producción de carne son sometidos a dietas altas en granos al finalizar su periodo de engorda, esto hace que se encuentren constantemente en peligro a padecer enfermedades metabólicas como la acidosis ruminal, los aditivos orientados a intervenir en procesos del rumen juegan una parte importante para la salud y bienestar del animal, estas sustancias deben ser reguladas para su uso con la finalidad de que sean eficientes, sustentables y al mismo tiempo permitidas para cualquier tipo de consumidores. Las regulaciones cada vez más estrictas con el uso de estos productos han abierto la posibilidad del uso de compuestos alternativos o “naturales” que ha impulsado últimamente el uso de levaduras, de minerales quelados y de extractos vegetales en la industria de la engorda (Plascencia, 2015). La prohibición de los antibióticos en la alimentación animal en la Unión Europea, y el retiro voluntario gradual de los Promotores del crecimiento (AGP) en alimentos en otras partes del mundo, ha supuesto una presión adicional a favor de mejorar la salud y el bienestar de los animales (Ravindran V., 2010). Hasta el momento existe muy poca información sobre los efectos de estos productos naturales sobre características de canal y cortes primarios de ovinos.

HIPÓTESIS

La inclusión de aceites esenciales y monensina sódica puede mejorar la respuesta sobre características de la canal y cortes primarios en ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del uso de aceites esenciales y monensina sódica sobre características de la canal y cortes primarios de ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar en uso de aceites esenciales en las características de la canal como peso canal caliente, peso canal fría, área del ojo de la costilla (AOC), longitud de la canal, espesor de

grasa dorsal, rendimiento de la canal; así como en los cortes primarios cuarto posterior y cuarto anterior.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevará a cabo en la Unidad de Engorda Experimental para Pequeños Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en el Km. 3.5 salida Sur carretera federal número 15 tramo Culiacán-Mazatlán y 1 Km. en Culiacán Sinaloa. Se realizará una prueba de respuesta productiva con duración de 70 días, en la cual se utilizarán 42 ovinos machos Pelibuey x Katahdin con un peso vivo inicial promedio de 28 kg. A su llegada, los animales serán asignados al azar (Diseño de Bloques Completos al Azar), bajo el criterio de peso vivo inicial en 21 corraletas experimentales techadas en su totalidad, con medidas de 3 m. de largo x 2 m. de ancho, equipadas con comedores metálicos de tres bocas con separadores y espacio de 20 cm. entre cada boca y bebederos de llenado manual. Los ovinos se desparasitarán por vía oral con Closantel MR al 5% (7.5 mg /kg de peso vivo) y serán vacunados contra pasteurelisis neumónica por vía subcutánea. Los animales serán asignados al azar a recibir los siguientes tratamientos: T1) dieta basal de finalización, T2) Dieta basal de finalización+monensina sódica (15mg/cbz/día), T3) Dieta basal de finalización+mezcla de aceites esenciales (10 gr/cbz/día). La dieta basal estará formulada según los requerimientos de los ovinos a PC 14-15% y 2.0 ENgMCal/kg. El alimento será ofrecido en dos horarios (8:00 y 17:00 horas) en cantidad equivalente al 3.0% de su peso vivo inicial, dicha cantidad se ajustará gradualmente con base al sobrante o al faltante de alimento existente al día siguiente de ser ofrecido. La servida AM quedará fijo a 300 gr por animal para asegurar el consumo del alimento, por lo tanto, el ajuste se realizará en una proporción de 5% del consumo del día anterior, el cual será aumentado o disminuido en la servida PM. Se pesará los 0-28 y 56 días, con ello se realizarán los cálculos para respuesta productiva. Al finalizar la prueba de alimentación, los ovinos serán trasladados a la planta de sacrificio; en los corrales de espera permanecerán 16 horas sin acceso a alimento, solo con acceso libre al agua, como lo indica la NOM-009-ZOO-1995, que para ovinos es de 12-24 h y el tiempo de reposo podrá reducirse a la mitad del mínimo señalado, cuando el ganado provenga de lugares cuya distancia sea menor de 50 kilómetros. Previo al sacrificio se registrará el peso vivo individual; posteriormente el peso individual de la canal caliente (sin vísceras verdes), las canales se conservarán en cuarto frío (2 °C) durante 24 horas, transcurrido el tiempo de refrigeración, se registrará el peso de la canal fría; posteriormente las canales serán transportadas a la sala de cortes de la FMVZ-UAS, se evaluarán en canal las siguientes características: rendimiento de la canal en %, área del ojo de la costilla en cm², mediante una plantilla oficial del servicio de clasificación de canales de los Estados Unidos de América (USDA), espesor de la grasa dorsal en y espesor de la pared abdominal en cm, medido a la altura de la 11 y 12^a costilla con un vernier digital, grasa de riñón y pelvis en gramos. Para determinar el rendimiento en cortes primarios, se retira cabeza y se obtiene cuello y la canal dividirá en dos proporciones; del cuarto anterior se obtendrán: costillar (IMPS 204), pecho (IMPS 209), hombro (IMPS 206), brazuelo (IMPS 210), y del cuarto posterior: lomo (IMPS 231), falda (IMPS 232E) y pierna (IMPS 233), con base al lineamiento establecido por Institutional Meat Purchase Specifications (IMPS)

aprobado por United States Department of Agriculture (USDA) para carne fresca de cordero (IMPS, 1996). El peso de cada corte será registrado y el rendimiento de los cortes primarios se calculará como el peso de cada corte dividido entre el peso de la canal fría multiplicado por cien.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se analizará el rendimiento (ganancia, eficiencia de ganancia, y energía dietética) y los datos de la canal como un diseño de bloques completos al azar. La unidad experimental es el corral. El procedimiento MIXED de SAS (SAS institute, 2004) se usará para analizar las variables. El efecto fijo será el tratamiento y la corraleta será el efecto aleatorio. Las diferencias se considerarán significativas cuando el valor P sea ≤ 0.05 , y las tendencias se identificarán cuando el valor P sea > 0.05 y ≤ 0.10 .

LITERATURA CITADA

- Hernández-Sarabia, E. A. Laksiri, Z. Wang, O.N. Durunna, S.S. Moore, and L.L. Guan. (2012). Adaptive variations in the bacterial impact of feed efficiency and diet on community in the rumen fluid of cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 74:1203-1214. DOI: 10.1128/AEM.05114-11.
- Plascencia A.J. (2015). Memoria: XXV Reunión internacional sobre producción de carne y leche en climas cálidos. Ponencia magistral: Evaluación de aditivos alimenticios sobre la respuesta productiva de rumiantes finalizados en corral bajo condiciones de alta temperatura ambiental. P:1-27. Sitio web: http://ica.mx/ica.uabc.mx/icaweb_archivos/MEMORIA%20FINAL%20XXV%20RIPCLCC.pdf.
- SENASICA. Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria. Norma Oficial Mexicana NOM-012-ZOO-1993, Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. Sitio web: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-012-zoo-1993>. Acceso: 07/02/2019.
- Moody, S.K., H.B. Patel, G.B. Dudhartra, Avinash Kumar, and T.J. Sheikh. 2011. Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *J. Applied Pharm. Sci.*1:33-36. ISSN: 2231-3354. http://www.japsonline.com/admin/php/uploads/208_pdf.pdf.
- Bergen, W. G., Bates D.B. 1985. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.* 58:1465-1483. <https://doi.org/10.2527/jas1984.5861465x>.
- Rusell, J.B., Strobel H.J. 1988. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensina and bacitracin, another gram-positive antibiotic. *J. Anim. Sci.* 66:552-558. DOI: [10.2527/jas1988.662552x](https://doi.org/10.2527/jas1988.662552x).

- Zinn, R.A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensina. *J. Anim. Sci.* 66:213-227. DOI: [10.2527/jas1988.661213x](https://doi.org/10.2527/jas1988.661213x).
- Carro T., M. D., Saro, C., Mateos, I., Díaz, A., & Ranilla, M. J. (2014). Perspectivas y retos de los extractos vegetales como aditivos alimentarios en rumiantes. *Albèitar*, (179), 4-6. Sitio web: [http://oa.upm.es/35229/1/INVE MEM 2014 191171.pdf](http://oa.upm.es/35229/1/INVE_MEM_2014_191171.pdf).
- Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308–316. DOI: [10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x)
- Ravindran V. (2010). FEDNA: Aditivos en alimentación animal: presente y futuro. Institute of Food, Nutrition and Human Health, Massey University, New Zealand. Pp 3-26. Sitio web: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/44-10CAP I.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/invernada_promotores_crecimiento/44-10CAP_I.pdf).
- Leeson, S. (2007). CAB reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. 2: 1-5. Sitio web: [https://www.researchgate.net/journal/1749-8848 CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources](https://www.researchgate.net/journal/1749-8848-CAB-Reviews-Perspectives-in-Agriculture-Veterinary-Science-Nutrition-and-Natural-Resources).
- IMPS. Institutional Meat Purchase Specifications. 1996. For Fresh Lamb and Mutton Serie 200. United States Department of Agriculture. Washington, D.C. Sitio web: <https://naldc.nal.usda.gov/download/38276/PDF>.
- NOM-009-ZOO-1994. Proceso Sanitario de la carne. Sitio web: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203872/NOM-009-ZOO-1994 161194 Orig.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203872/NOM-009-ZOO-1994_161194_Orig.pdf).
- SAS, 2004. User's guide: Statistcs Version 9, 6th ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC. ISBN 1-59047-243-8. Sitio web: https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/sasdoc_91/stat_ug_7313.pdf.

HIDROLIZADOS PROTEÍCOS DE MÚSCULO DE *Bagre panamensis* USANDO PROTEASAS INTESTINALES Y ALCALASA

Gissel Daniela Rios Herrera¹, Jorge Saul Ramírez Pérez², Jesús Aarón Salazar Leyva³,
Crisantema Hernández González⁴, Laura Rebeca Jiménez Gutiérrez² y Ángel Valdez Ortiz⁵.

- 1.- Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa. giseel.rios.facimar@uas.edu.mx
2. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa.
- 3.- Universidad Politécnica de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa.
- 4.- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Mazatlán, Sinaloa.
- 5.- Universidad Tecnológica de Culiacán. Culiacán, Sinaloa.

Resumen

Objetivo: Obtener hidrolizados proteicos con capacidad antioxidante a partir de músculo *B. panamensis* utilizando proteasas aisladas de su intestino. **Metodología:** Los hidrolizados proteicos (HP) de músculo fueron obtenidos por el método de pH-STAT, utilizando un extracto semipurificado de proteasas (ESP) intestinales y la enzima comercial Alcalasa. La mezcla de reacción consistió en 4% de proteína de músculo y se agregaron las mismas unidades de actividad (0.7 U/mL) de las diferentes enzimas utilizadas para comparar la eficiencia hidrolítica. Durante la reacción, la temperatura se mantuvo constante a 30°C y pH 9 mediante la continua adición de NaOH 0.25 N. Se evaluó la capacidad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP. Se determinó la distribución de pesos moleculares utilizando un HPLC acoplado a un detector ultravioleta y una columna de filtración en gel. **Resultados:** Se obtuvieron HP al 10, 20 y 30 % de grado de hidrólisis (GH), observándose mayor eficiencia hidrolítica en los HP obtenidos con el ESP en comparación con los HP con Alcalasa. A los 140 minutos de reacción con ESP se alcanzó un GH de 30.86%, mientras que con Alcalasa se obtuvo tan solo el 8.90%. Así mismo, el tratamiento que presentó mayor capacidad antioxidante fue el HP con ESP por las técnicas de FRAP y DPPH, sin embargo, en ABTS no se presentó diferencia significativa entre los HP de músculo con ESP y músculo con Alcalasa. De acuerdo con el perfil de pesos moleculares, los HP con GH del 30% contienen alrededor de 58.16% de péptidos con peso molecular menores a 1.35 kDa. **Conclusiones:** Dichos resultados confirman que las proteasas intestinales aisladas de chihuil representan gran potencial para la producción de hidrolizados proteicos con capacidad antioxidante que puedan ser utilizados como aditivos en alimentos para especies acuícolas. **Palabras Clave:** Eficiencia hidrolítica, grado de hidrólisis, péptidos antioxidantes.

Abstract

Objective: Obtain protein hydrolysates with antioxidant capacity from muscle *B. panamensis* using proteases isolated from their intestine. **Methodology:** Protein hydrolysates (HP) of muscle were obtained by the pH-STAT method, using a semipurified extract of intestinal proteases (ESP) and the commercial enzyme Alcalase. The reaction mixture consisted of 4% muscle protein and the same activity units (0.7 U / mL) of the different enzymes used to compare the hydrolytic efficiency were added. During the reaction, the temperature was kept constant at 30 ° C and pH 9 by the continuous addition of 0.25 N NaOH. The antioxidant

capacity was evaluated by DPPH, ABTS and FRAP methods. The molecular weight distribution was determined using an HPLC coupled to an ultraviolet detector and a gel filtration column. **Results:** HP were obtained at 10, 20 and 30% degree of hydrolysis (GH), with greater hydrolytic efficiency observed in HP obtained with ESP compared to HP with Alcalase. At 140 minutes of reaction with ESP a GH of 30.86% was reached, while Alcalase obtained only 8.90%. Likewise, the treatment with the highest antioxidant capacity was HP with ESP by the FRAP and DPPH techniques; however, in ABTS there was no significant difference between muscle HP with ESP and muscle with Alcalase. According to the molecular weight profile, HP with GH of 30% contain around 58.16% of peptides with a molecular weight lower than 1.35 kDa. **Conclusions:** These results confirm that the intestinal proteases isolated from chihuil represent great potential to produce protein hydrolysates with antioxidant capacity that can be used as additives in food for aquaculture species. **Keywords:** Hydrolytic efficiency, degree of hydrolysis, antioxidant peptides.

INTRODUCCIÓN

El chihuil también denominado chigüil o bagre marino, es una especie demersal que habita en aguas marinas y costeras, se distribuye desde las costas de Sinaloa y el sur de la península de baja california, hasta la parte media central del ecuador (Castro-Aguirre *et al.* 1999). En la costa del Pacífico mexicano existen alrededor de 13 especies de chihuil, siendo *Bagre panamensis* una de las más abundantes. Estos peces forman parte importante de la captura incidental en la pesquería ribereña, y en los últimos años han ido adquiriendo gran importancia comercial debido a que son capturados en grandes cantidades y en tallas considerables durante casi todo el año, principalmente en la región costera del estado de Sinaloa (Amezcuca y Muro-Torres, 2012). Existen diversas tecnologías las cuales pueden ser aplicadas a la proteína del pescado; una de estas es la obtención de hidrolizados proteicos (HP), los cuales consisten en la solubilización e hidrólisis de una fuente proteica, ya sea por agentes químicos o por enzimas, para así incrementar su valor biológico y/o nutricional (Sathive *et al.*, 2003 y Nilsang *et al.*, 2005). Un HP está formado por péptidos de diferentes tamaños originados de la hidrólisis de proteínas, catalizada por agentes químicos o por enzimas. El emplear la proteína de pescado para hidrolizar, resulta atractivo porque se conserva el valor nutritivo y se consigue un producto con valor agregado, y altamente comercializable. Una de las formas para obtener HP es a base de proteasas digestivas de pescado. Las proteasas son un grupo importante de enzimas hidrolíticas que se distribuyen en todos los organismos vivos (Moreno-Hernández *et al.*, 2016). Constituyen uno de los grupos más importantes de enzimas industriales, representan al menos el 50% de todas las ventas mundiales de enzimas y presentan diversas aplicaciones (Kudre y Thongraung, 2004). Debido a sus propiedades atractivas, las proteasas son empleadas como biocatalizadores indispensables en los sectores industriales de detergente, cuero, productos farmacéuticos, tecnología alimentaria, textiles, panadería, procesamiento de soja, cervecería, procesamiento de proteínas y síntesis de péptidos (Shah *et al.*, 2010). La búsqueda de proteasas de diferentes fuentes ha aumentado en los últimos años. Con el fin de ofrecer una variedad de proteasas, particularmente aquellas con propiedades únicas, se han estudiado nuevas fuentes de enzimas proteolíticas, incluyendo proteasas de peces, especialmente de vísceras de peces. Estas proteasas han mostrado mayores actividades catalíticas en una amplia gama de condiciones de pH y temperatura a concentraciones relativamente bajas.

Por lo tanto, los estudios que describen las enzimas aisladas de estos animales representan el primer paso para evaluar su potencial para la aplicación tecnológica (Villalba-Villalba *et al*, 2013).

JUSTIFICACIÓN

El Chihuil (*Bagre panamensis*) al ser parte importante de la captura incidental en la pesquería ribereña, representa un excelente modelo para aplicar nuevas tecnologías para su procesamiento, pues se sabe que, debido a su alto contenido de proteína, los organismos marinos pueden ser transformados en productos de gran valor alimenticio y financiero, tales como hidrolizados proteicos, los cuales pueden ser obtenidos a partir de proteasas intestinales de peces, aprovechando así de una manera integral un recurso pesquero como lo es el chihuil. Adicionalmente, se ha reportado que los hidrolizados proteicos provenientes de diversas especies de pescado poseen propiedades bioactivas relevantes, destacando su alta capacidad antioxidante. Por lo tanto, el conocimiento de la actividad enzimática del intestino de chihuil, respecto a sus características y propiedades, permitirá aplicarlo tecnológicamente en la producción de hidrolizados proteicos con capacidad antioxidante, utilizando la proteína del músculo de estos organismos, generando así, un mayor interés comercial sobre esta especie.

HIPÓTESIS

Las proteasas digestivas extraídas de intestino de chihuil (*B. panamensis*) presentan mayor rendimiento en la obtención de hidrolizados proteicos antioxidantes respecto a la proteasa comercial.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad antioxidante de los hidrolizados proteicos de músculo de chihuil (*B. panamensis*) obtenidos a partir de proteasas aisladas de su intestino y una enzima comercial.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener y caracterizar un extracto semipurificado de proteasas digestivas a partir de intestino de chihuil.
2. Hidrolizar la proteína presente en músculo de chihuil utilizando proteasas digestivas y la enzima comercial Alcalasa 2.4 L.
3. Evaluar la capacidad antioxidante de los hidrolizados proteicos de chihuil y caracterizarlos químicamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la obtención de hidrolizados proteicos (HP) se utilizó músculo de chihuil congelado, un extracto semipurificado (ESP) de proteasas intestinales aisladas del chihuil y la enzima comercial Alcalasa 2.4 L.

Obtención de hidrolizados proteicos a partir de músculo de chihuil

Se siguió la metodología propuesta por Bougatef *et al* (2009). El músculo de chihuil fue macerado en agua destilada y posteriormente se llevó a 90 °C para inactivar enzimas endógenas. La muestra fue homogeneizada durante aproximadamente 2 min. El pH de la mezcla fue ajustado a los valores óptimos de pH 9 y temperatura de 40 °C para cada enzima utilizada (ESP y Alcalasa 2.4 L). Se agregaron las mismas unidades de actividad (0.7 U/mL) de las diferentes enzimas utilizadas para comparar la eficiencia hidrolítica, sin embargo, para lograr obtener el mismo porcentaje de grado de hidrolisis con ambas enzimas fue necesario aumentar las unidades de actividad de la enzima Alcalasa 2.4 L (8 U/mL). Durante la reacción, el pH y temperatura de la mezcla se mantuvo constante mediante la continua adición de solución de NaOH 0.25 N. Después del tiempo de digestión requerida, la reacción se detuvo por calentamiento a 90 °C durante 20 min para inactivar a las enzimas. Los hidrolizados de proteína fueron centrifugados a 8500 rpm durante 20 min para separar las fracciones solubles e insolubles. Por último, la fase soluble fue liofilizada y se almacenó para su posterior uso. Se determinó el GH utilizando el método del pH-STAT de acuerdo con lo propuesto por Adler-Nissen (1986). Para ello se utilizó NaOH 0.25 N como base, para mantener un pH constante. El GH fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\%GH = (B)(N_b) \left(\frac{1}{\alpha} \right) \left(\frac{1}{MP} \right) \left(\frac{1}{h_{tot}} \right) * 100$$

Donde B es el consumo de la base (mL), N_b es la normalidad de la base, MP es la cantidad proteína en la muestra (g), h_{tot} es el número total de enlaces peptídicos en la proteína del sustrato y $1/\alpha$ es el grado de disociación promedio de los grupos α -amino.

Capacidad antioxidante de HP y distribución de pesos moleculares de péptidos

Se determinó la capacidad antioxidante a los HP obtenidos anteriormente por los métodos de FRAP, ABTS y DPPH, así como el tamaño de los péptidos formados durante la hidrólisis.

Poder reductor FRAP

La capacidad de las muestras para reducir al ion férrico (Fe^{3+}) se determinó de acuerdo con lo propuesto por Benzie y Strain (1996), con modificaciones llevadas a cabo por Szollosi y Vargas (2002). El reactivo FRAP es una mezcla recién preparada de solución TPTZ (2, 4, 6-tri-2-piridil-s-triazina) en HCl, solución $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ y buffer de acetato pH 3.6, (1:1:10, v/v/v), la cual fue incubada a 37 °C durante 30 minutos antes de añadir a la muestra. La mezcla de reacción se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente y posteriormente se registró la absorbancia a 593 nm. El incremento de la absorbancia de la mezcla de reacción indica mayor poder reductor.

Reducción del radical ABTS

El método de ABTS se determinó de acuerdo con lo propuesto por Przygodzka *et al.* (2014). La reducción del radical ABTS se evaluó a partir de la reacción de una solución madre (ABTS) con persulfato de potasio. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 12 h a temperatura ambiente. Antes del ensayo, la solución de ABTS fue diluida con metanol para obtener una absorbancia de 0.8-0.9 a 734 nm. Para iniciar la reacción, 100 μ L de la muestra se mezclaron con 2.9 mL de la solución ABTS y se agitó cuidadosamente. Posteriormente se

fue registrando la disminución de la absorbancia cada minuto durante 10 minutos. La actividad del radical ABTS fue expresada como la concentración media efectiva (EC_{50}) calculada como la concentración (mg/mL) de HP necesaria para reducir en un 50 % el radical ABTS bajo las condiciones del ensayo empleado.

Actividad de inhibición del radical DPPH

El método de DPPH se realizó de acuerdo con lo descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). 100 μ L de muestra se mezclaron con 900 μ L de la solución de DPPH. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 min. y se registró la absorbancia 517 nm. Se realizó una curva con Trolox y los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de Trolox por miligramo de HP (mM Eq. Trolox/mg HP).

Distribución de pesos moleculares de HP

Con la finalidad de conocer los rangos de peso molecular de las moléculas de origen proteico presentes en los HP, se determinó la distribución de pesos moleculares utilizando un sistema HPLC, equipado con una columna de filtración en gel y un detector ultravioleta (UV). Se inyectó una concentración conocida de la muestra y se monitoreó la separación con el detector UV a una longitud de onda de 220 nm. Se llevará a cabo una elución isocrática utilizando como fase móvil una solución amortiguadora de fosfato de sodio a pH 7. Para calcular el porcentaje de cada una de las fracciones peptídicas presentes en las muestras de HP, se utilizaron estándares de diferentes proteínas y péptidos comerciales, en un rango de pesos moleculares de 430 a 12,500 Da (Da-Yong *et al.* 2012).

Análisis estadístico

El efecto de la enzima utilizada para hidrolizar la proteína de músculo de chihuil sobre el grado de hidrólisis y capacidad antioxidante de los HP fue analizado utilizando un diseño completamente aleatorio de un factor (tipo de enzima) y dos niveles (ESP y Alcalasa 2.4 L), teniendo como variables de respuesta el grado de hidrólisis y la capacidad antioxidante de los HP. Se realizó un análisis de varianza seguido por una prueba de comparación múltiple de Tukey con un $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención de hidrolizados proteicos a partir de músculo de chihuil

Se obtuvieron HP a partir de músculo de chihuil utilizando el ESP obtenido en el objetivo 1 y la enzima comercial Alcalasa. Con el fin de dilucidar la eficiencia entre estas dos proteasas se utilizaron las mismas unidades de actividad en ambas enzimas (0.7 U), así como las mismas condiciones de temperatura (40 °C) y pH 9. Los resultados muestran que el hidrolizado obtenido a partir del ESP alcanzó un grado de hidrólisis (GH) de 30.12 % en 240 minutos, mientras que el hidrolizado obtenido con la Alcalasa obtuvo solamente 11.56 % (Figura 1). Adicionalmente, se realizaron HP de caseína comercial utilizando las mismas condiciones que en los HP de músculo de chihuil. Bougatef *et al.* (2009), obtuvieron HP de *Mustelus mustelus* utilizando un extracto de proteasas intestinales y la enzima comercial tripsina, obteniendo un comportamiento similar a los resultados obtenidos en este estudio, en el cual el extracto intestinal presentó mayor GH con respecto a la enzima comercial. Por otro lado, diversos autores señalan que la bioactividad de los péptidos formados durante la

hidrólisis depende del porcentaje de hidrólisis obtenido (Yarnpakdee *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2012; Thiansilakul *et al.*, 2007). Por lo cual, se obtuvieron HP de músculo de chihuil al 10, 20 y 30 % GH utilizando el ESP y la Alcalasa, destacando que fue necesario incrementar las unidades de actividad en la enzima comercial Alcalasa, debido a que no se lograba alcanzar el grado de hidrólisis de 20 y 30 %.

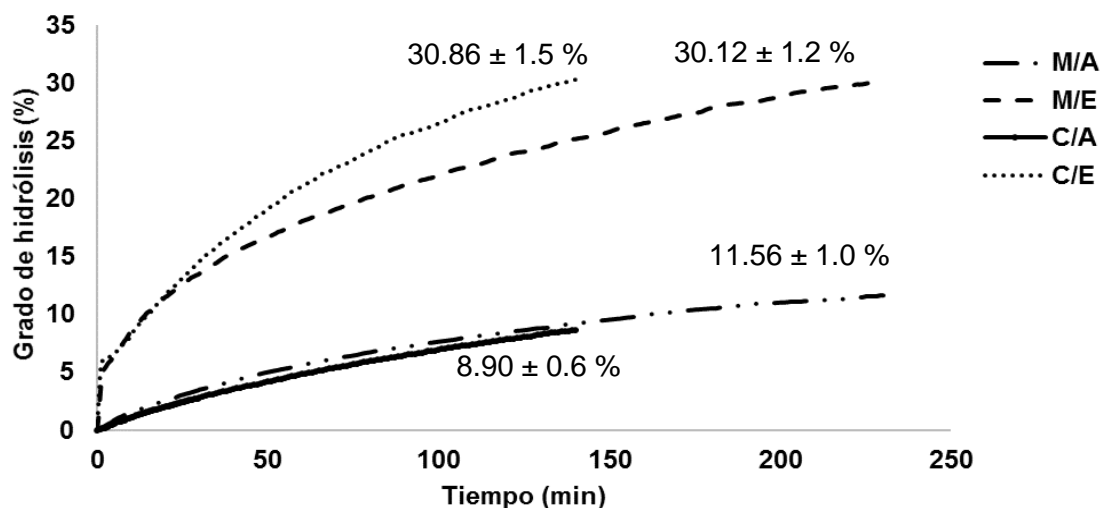


Fig. 1. Hidrolizados proteicos obtenidos de músculo de chihuil (M) y caseína (C) usando ESP (E) y Alcalasa 2.4 L (A). Promedio ± desviación estándar (n=3).

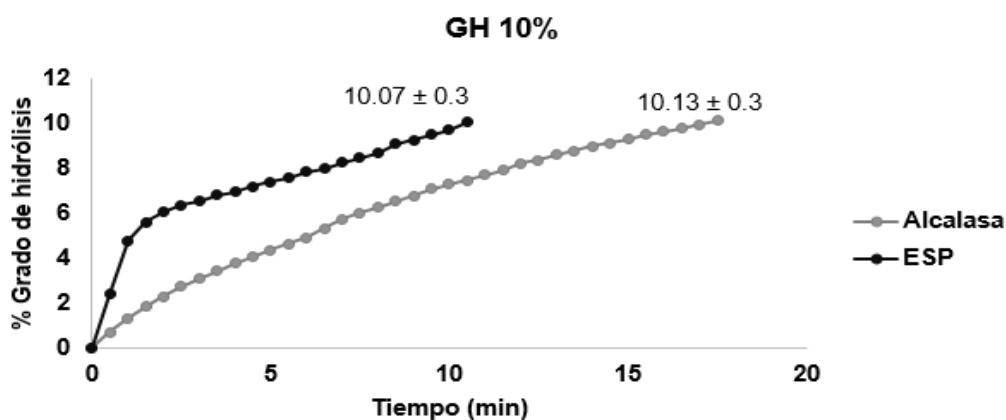


Fig. 2. Grado de hidrólisis 10 % obtenidos de músculo de chihuil usando ESP y Alcalasa 2.4 L. Promedio ± desviación estándar (n=3).

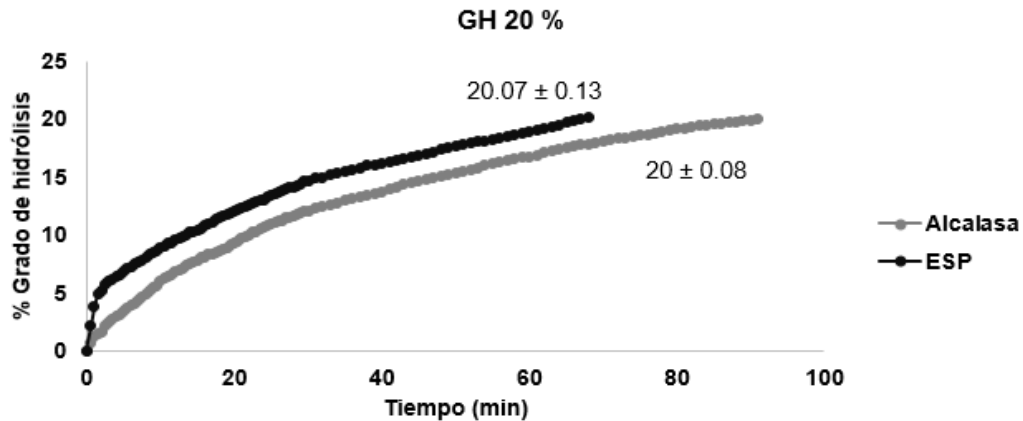


Fig. 3. Grado de hidrólisis 20 % obtenidos de músculo de chihuil usando ESP y Alcalasa 2.4 L. Promedio \pm desviación estándar (n=3)

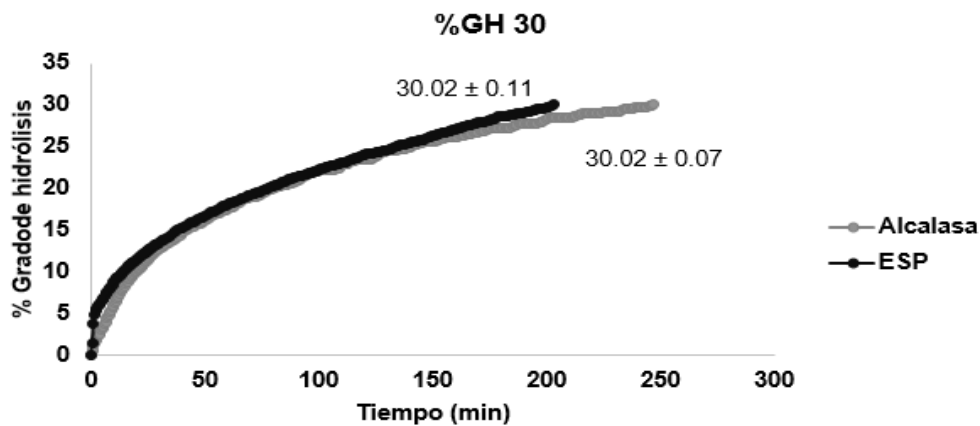


Fig. 4. Grado de hidrólisis 30 % obtenidos de músculo de chihuil usando ESP y Alcalasa 2.4 L. Promedio \pm desviación estándar (n=3).

Yarnpakdee *et al.* (2015) obtuvieron HP de músculo de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) al 10, 20, 30 y 40 % GH utilizando la enzima comercial Alcalasa 2.4 L. Mostrando como resultados que los péptidos con mayor capacidad antioxidante estaban presentes a 30 % de GH. Por el contrario, Li *et al.* (2012), obtuvieron HP de músculo de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*) lograron un GH de 10 y 20%, encontrando mayor actividad antioxidante a un GH de 10%.

FRAP

En las Figuras 5, 6 y 7 se muestra la capacidad de reducir el Fe^{+3} a Fe^{+2} de los diferentes HP de músculo de chihuil y caseína a diferentes porcentajes de GH. Se observa que el HP con mayor capacidad antioxidante fue músculo con ESP en los GH al 10, 20 y 30% en concentraciones de 5 a 20 mg/mL, seguido por el HP de músculo con Alcalasa. Por otro lado, no se observó diferencia significativa entre HP de caseína con ESP y caseína con Alcalasa, sin embargo, conforme aumenta la concentración del HP aumenta la respuesta antioxidante.

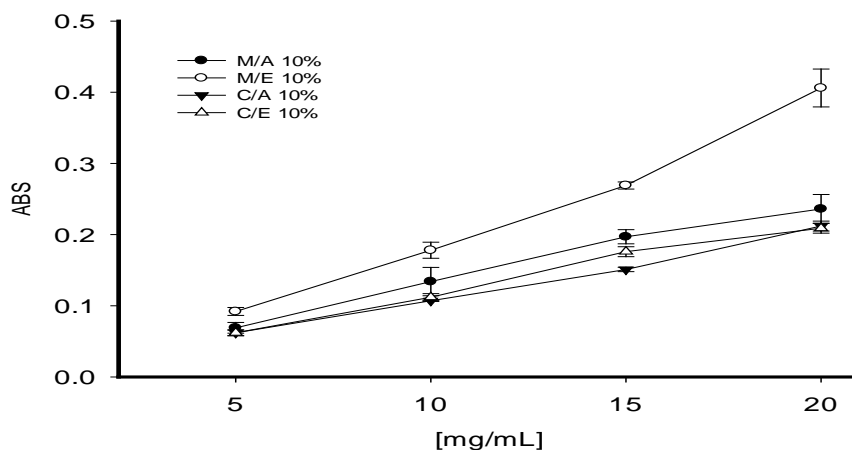


Fig. 5. Capacidad antioxidante de HP de músculo de chihuila (M) y caseína (C) al GH 10 % utilizando el ESP (E) y la Alcalasa (A). Barras de error indican promedio \pm desviación estándar.

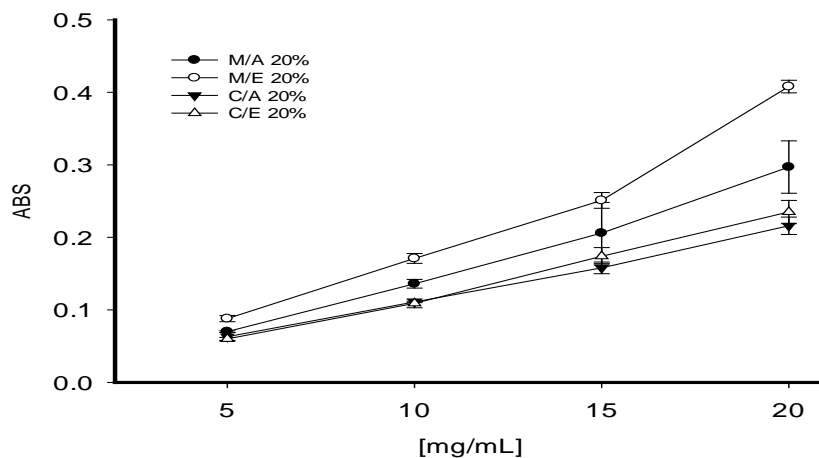


Fig. 6. Capacidad antioxidante de HP de músculo de chihuila (M) y caseína (C) al GH 20 % utilizando el ESP (E) y la Alcalasa (A). Barras de error indican promedio \pm desviación estándar.

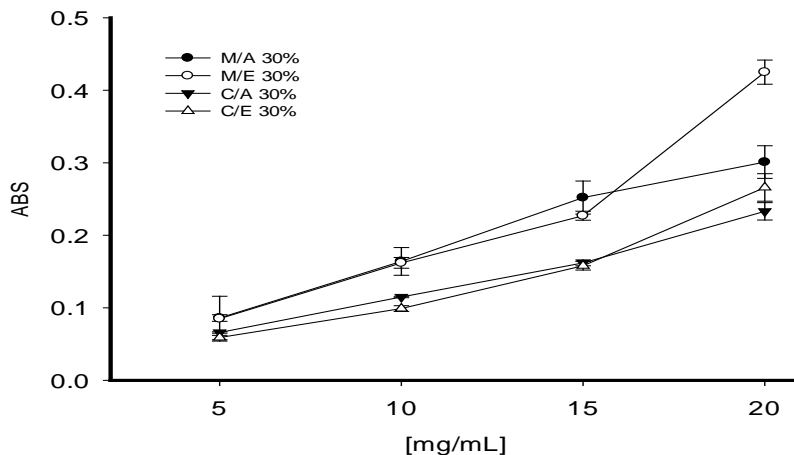


Fig. 7. Capacidad antioxidante de HP de músculo de chihuil (M) y caseína (C) al GH 30 % utilizando el ESP (E) y la Alcalasa (A). Barras de error indican promedio \pm desviación estándar.

ABTS

La Figura 8 muestra los resultados de ABTS de los diferentes HP de músculo de chihuil y caseína a diferentes porcentajes de GH. La mayor capacidad antioxidante se observa en los HP de músculo con Alcalasa en los 10 y 20 % GH (EC50 de 2.62 y 1.95 respectivamente) y no presentó diferencia estadísticamente significativa entre músculo con Alcalasa (EC50 1.53) y músculo con ESP (EC50 1.50) al 30 % GH y se observa la misma tendencia en los HP de caseína. Resultados contrarios a los obtenidos en el método de FRAP. Por otro lado, se puede observar la tendencia que conforme aumenta el porcentaje de GH aumenta la capacidad antioxidante, tal como lo mencionan Yarnpakdee *et al.* (2015).

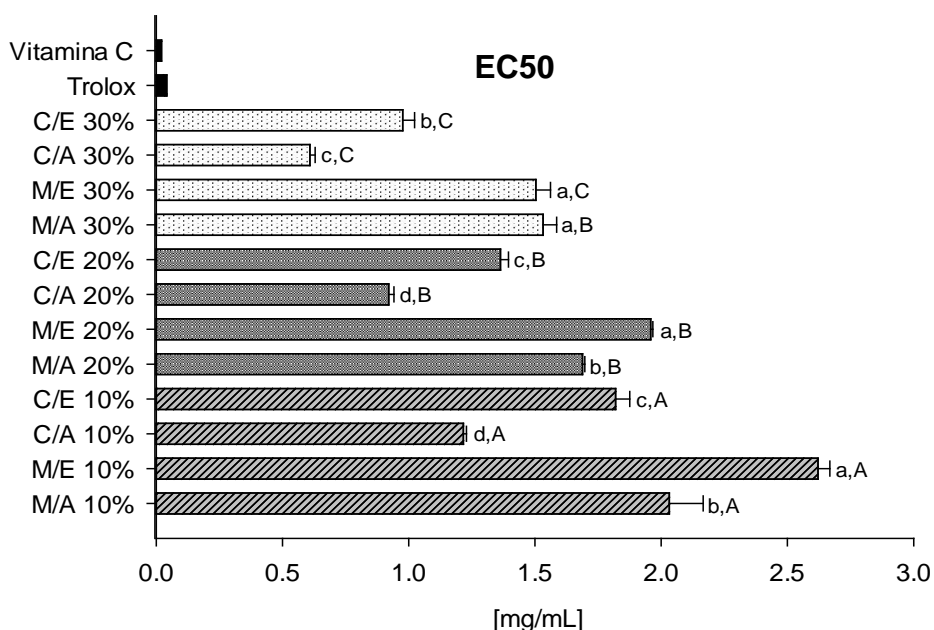


Fig. 8. Capacidad antioxidante de HP de músculo de chihuil (M) y caseína (C) al GH 10, 20 y 30% utilizando el ESP (E) y la Alcalasa (A). Medias que no comparten la misma letra minúscula son significativamente diferentes entre tratamiento en un mismo % GH, medias que no comparten la misma letra mayúscula son significativamente diferentes entre % GH en un mismo tratamiento, ($p < 0.05$). Barras de error indican promedio \pm desviación estándar.

DPPH

Los resultados de capacidad antioxidante por el método de DPPH en los diferentes HP de músculo y caseína se muestran en la Figura 9, observándose que la mayor capacidad antioxidante la presentó el HP de músculo con ESP a 30 % GH (118.87 μ M Eq. Trolox/ μ g HP), tendencia similar a la obtenida en FRAP. A medida que aumenta el porcentaje de GH, aumentan las actividades de captación de radicales del DPPH, sin embargo, no se observó diferencia estadísticamente significativa entre 10 y 20 % GH (106 y 104 μ M Eq. Trolox/ μ g

HP, respectivamente). En cuanto a los HP de caseína se observó mayor actividad antioxidante en los HP obtenidos con Alcalasa 30 % GH.

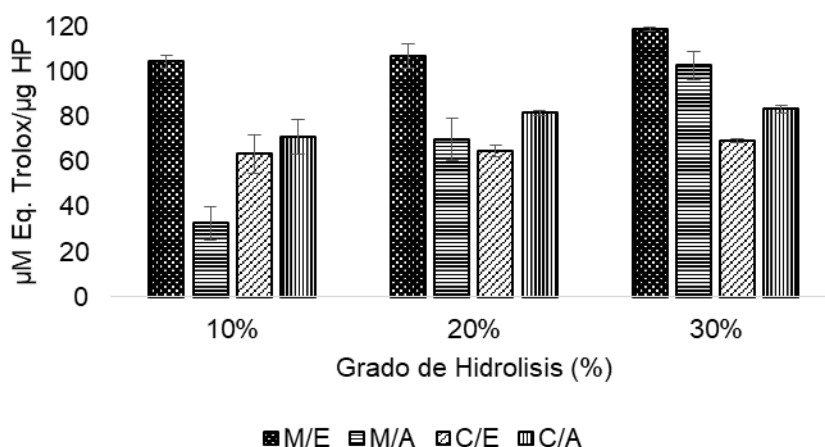


Fig. 9. Capacidad antioxidante de HP de músculo de chihuil (M) y caseína (C) al GH 10, 20 y 30% utilizando el ESP (E) y la Alcalasa (A). Barras de error indican promedio \pm desviación estándar.

Distribución de pesos moleculares de HP

En la tabla I se observa la distribución de los pesos moleculares de los HP a sus diferentes porcentajes de GH, resaltando que, a mayor GH se encuentran péptidos de menor peso molecular. El HP que presentó mayor capacidad antioxidante fue músculo con ESP, en el cual se muestra que el mayor porcentaje de péptidos se encuentran en un peso molecular entre 17 KDa y menores a 1.35 KDa. Este rango es similar al reportado por Wu *et al.* (2003), que encontró que la fracción antioxidante más fuerte del hidrolizado de proteína de *Scomber australasicus* incluía péptidos pequeños (inferiores a 1.4 kDa) y aminoácidos libres. Del mismo modo, Je *et al.* (2005) encontraron una correlación entre la actividad antioxidante y el peso molecular de los péptidos en los hidrolizados de la proteína de *Theragra chalcogramma*, con una mayor actividad antioxidante asociada con los péptidos de bajo peso molecular (menores a 1 kDa).

Tabla I. Distribución de pesos moleculares de HP de músculo de chihuil (*B. panamensis*) y caseína

KDa	>670	17-1.35	<1.35
M/A 10	1.674 \pm 0.27	75.066 \pm 0.32	17.988 \pm 1.05
M/A 20	1.172 \pm 0.32	60.727 \pm 1.36	31.648 \pm 2.16
M/A 30	1.368 \pm 0.12	48.910 \pm 7.87	45.762 \pm 8.70
M/E 10	0.921 \pm 0.12	53.128 \pm 1.12	41.774 \pm 0.12
M/E 20	2.819 \pm 1.40	57.089 \pm 2.31	33.804 \pm 1.47
M/E 30	1.369 \pm 0.13	37.201 \pm 3.06	58.168 \pm 2.72

Porcentaje de pesos moleculares de HP de músculo (M) y caseína (C) con ESP (E) y Alcalasa (A) a diferentes porcentajes de GH. Media \pm desviación estándar de tres determinaciones.

CONCLUSIONES

- El ESP presentó una mayor eficiencia hidrolítica en comparación con la enzima comercial Alcalasa bajo las mismas condiciones y utilizando las mismas unidades de actividad, lo cual confirma la hipótesis de este trabajo.
- El tratamiento que presentó mayor capacidad antioxidante fue músculo con ESP por las técnicas de FRAP y DPPH, sin embargo, en la técnica de ABTS no se presentó diferencia estadística entre músculo con ESP y músculo con Alcalasa.
- La bioactividad de los hidrolizados proteicos está relacionada con el porcentaje de GH, ya que, los HP al 30 % GH obtuvieron mayor actividad antioxidante con respecto a los del 10 %.

LITERATURA CITADA

- Amezcuca, F. y Muro-Torres, V. 2012. Biología reproductiva del bagre cominate *Occidentarius platypogon* (Pisces: Ariidae) en el sureste del golfo de California. Latin American Journal Aquatic Research, 40:428-434.
- Castillo-Yáñez, F.J., Aguilar, R.P., Lugo-Sanchez, M.E., Sanchez, G.G. y Reyes, Q.E. 2009. Biochemical characterization of an isoform of chymotrypsin from the viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caerulea*), and comparison with bovine chymotrypsin. Food Chemistry. 634–639.
- Castro-Aguirre, J., Espinosa Pérez, H. y Schmitter-Soto, J. 1999. Ictiofauna estuarino lagunar y vicaria de México. Editorial Limusa, México. 711 pp.
- García-Carreño, F.L. 1996. Proteinase inhibitors. Trends in food science and technology. 7: 197-203.
- Jellouli, K., Bougatef, A., Daasi, D., Balti, R., Barkia, A. y Nasri, M. 2009. New alkaline trypsin from the intestine of grey triggerfish (*Balistes capriscus*) with high activity at low temperature: Purification and characterization. Food Chemistry. 116: 644-650.
- Khaled, H.B., Jellouni, K., Souissi, N., Ghorbel, S., Barkia, A. y Nasri, M. 2011. Purification and characterization of three trypsin isoforms from viscera of sardinelle (*Sardinella aurita*). Fish Physiology and Biochemistry. 37: 123-133.
- Kudre, T. y Thongraung. 2014. Organic Solvent and Laundry Detergent Stable Crude Protease from Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Viscera. Journal of Aquatic Food Product Technology, 23: 87–100.
- Moreno-Hernández, J.M., Hernández-Mancillas, X.D., Coss, N.E., Mazorra-Manzano, M.A., Osuna-Ruiz, I., Rodríguez-Tirado, V.A. y Salazar-Leyva, J.A. 2017. Partial Characterization of the Proteolytic Properties of an Enzymatic Extract From “Aguama” *Bromelia pinguin* L. Fruit Grown in Mexico. Applied Biochemistry and Biotechnology. 182:181-196.

- Nilsang, S., Lertsiri, M., Suphantharika, S. y Assavaning, A. 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. Nogueira, E. 2008. Estudio de la respuesta celular a SOK1 y mecanismos de regulación. [Tesis doctoral]. Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Fisiología. 76.
- Rahman, R.N.Z.R.A., Geok, L.P., Basri, M. y Salleh, A.B. 2006. An organic solvent-stable alkaline protease from *Pseudomonas aeruginosa* strain K: enzyme purification and characterization. *Enzyme and Microbial Technology*. 39: 1484-1491.
- Sáenz de Rodríguez, M., Alarcón, F.J., Martínez, M.I., Ruiz, F., Díaz, M. y Moyano, F.J. 2005. Caracterización de las proteasas digestivas del lenguado senegalés *Solea senegalensis* Kaup, 1858. *Instituto Español de Oceanografía*. 21: 95-104
- Sarath, G., De La Motte, R., y Wagner, F. 1989. In R. Beynon (Ed.). *Proteolytic enzymes a practical approach*, vol. 3: protease assay methods. 25-55.
- Sathivel, S., Bechtel, P.J., Babbitt, J., Smiley, S., Crapo, C., Reppond, K.D. y Prinyawiwatkul, W. 2003. Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) byproduct hydrolysates. *Journal in Food Science*, 68: 2196-200.
- Shah, K., Mody, K., Keshri, J. y Jha, B. 2010. Purification and characterization of a solvent, detergent and oxidizing agent tolerant protease from *Bacillus cereus* isolated from the Gulf of Khambhat. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 67: 85-91
- Villalba-Villalba, A.G., Ramírez-Suárez, J. C., Valenzuela-Soto, E.M., García-Sánchez, G., Carvallo, R. G. y Pacheco-Aguilar, R. 2013. Trypsin from viscera of vermiculated sailfin catfish, *Pterygoplichthys disjunctivus*, Weber, 1991: Its purification and characterization. *Food Chemistry*. 141: 940-945.

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE PIOJOS DEL GÉNERO LINOGNATHUS PRESENTES EN CAPRINOS.

Zatarain DE ^{1*}, Enríquez VI¹, Castro del CN¹, López ACV¹, Gaxiola CSM¹

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa
daniel.zatarain.fmvz18@uas.edu.mx

I. INTRODUCCIÓN

Los piojos pertenecen a la clase Insecta (Ajith *et al.*, 2017a), orden Phthiraptera, en el cual se reconocen cuatro subórdenes; los piojos masticadores pertenecen a los subórdenes: *Rhyncophthirina*, *Amblycera* e *Ischnocera* y los chupadores al Anoplura (Light y Hafner, 2007). Son ectoparásitos obligados permanentes de aves y mamíferos, y dependen completamente de sus hospedadores para sobrevivir (Johnson *et al.*, 2004); algunos son específicos de un huésped (Hopla *et al.*, 1994); sin embargo, en ocasiones un hospedador puede presentar un parásito accidental, no propio de éste y rara vez se aleja voluntariamente (Lozoya *et al.*, 1986); éstos se transmiten por contacto de un animal infectado a otro, sin embargo pueden ser transmitidos por ectoparásitos de mayor tamaño (Moscas o Mosquitos), se desarrollan por una metamorfosis gradual en la cual presentan las fases de huevo, ninfa (cuatro estadios) y adultos (macho y hembra), dentro del huevo se desarrolla la ninfa, donde sufre una muda y se transforma en una tercera ninfa y de ésta la cuarta, después se transforma en macho o hembra adulta (Clayton y Johnson, 2003); los piojos del orden Anoplura son hematófagos permanentes obligados; están registradas más de 540 especies los cuales afectan a los mamíferos, incluidos los humanos (Yong *et al.*, 2003), tienen 50 géneros distribuidos en 15 familias (Light *et al.*, 2010); son menos móviles y permanecen muy unidos a la piel del huésped durante mucho tiempo a diferencia de los piojos masticadores (Ajith *et al.*, 2017b), la sangre del huésped es esencial para un desarrollo exitoso y supervivencia de todos los piojos chupadores, se alimentan de vasos sanguíneos o solenófagos, tomando sangre a través de un estilete dorsal hueco, el cual sale de la hipofaringe; estos infestan áreas específicas del cuerpo, de donde pueden diseminarse durante infestaciones severas; dado su dependencia a la disponibilidad de huésped confrontan problemas con respecto a su supervivencia de largo plazo, por ser todos los piojos chupadores parásitos obligados; el estar lejos de un huésped puede ser fatal, durante fuera de este un día (Snodgrass, 1944). Los piojos presentes en caprinos son del género *Damalinia* spp el cual pertenece al suborden Ischnocera (masticador) y los del género *Linognathus* spp (*L. spp*) pertenecientes del suborden Anoplura (piojos chupadores) (Iqbal *et al.*, 2015; Eticha *et al.*, 2017; Ajith *et al.*, 2017a). Los piojos del género *Linognathus* se caracterizan por no tener ojos ni placas en el abdomen, sus órganos sensoriales son series de sedas en cada segmento del cuerpo; con respecto a las patas terminan en una uña que se adhiere a la tibia en cada tarso (Light *et al.*, 2010); se han identificado morfológicamente piojos presentes en caprinos, Iqbal *et al.* (2014), en el distrito de Toba Tek Singh, Punjab, Pakistán, confirmaron la presencia de *L. spp*; en la India Ajith *et al.* (2017a) identificó la especie *L. africanus*, en la zona de Bareilly y en la llanura fértil indo-gangética; Rashmi y Saxena (2017), en Rampur, confirmaron la presencia de *L. africanus* y Lozoya *et al.* (1986) identificó *L. spp* en caprinos en México. Los genes utilizados para la identificación genética son CO1, 18S y EF-1 α (Light *et al.*, 2010), los

estudios realizados por Johnson *et al.* (2002) y Xiong *et al.* (2014) identificaron piojos genéticamente por el gen mitocondrial CO1, de piojos presentes en palomas y humanos respectivamente. Los piojos han sido considerados más como una molestia que una preocupación; sin embargo, una gran infestación en un solo huésped lleva a problemas como prurito, alopecia, anemia y reacciones alérgicas (Durden y Lloyd 2009; Dunder *et al.*, 2014); además, son vectores de algunas enfermedades como *Anaplasma ovis* (Hornok *et al.*, 2010) y *Mycoplasma ovis* (Hornok *et al.*, 2012), tularemia, tifus epidémico, fiebre recurrente transmitida por piojos y fiebre de zanja (Sánchez-Montes *et al.*, 2013); los caprinos son una fuente importante de proteínas, a través de la producción de carne y leche, en regiones pobres del mundo (Iqbal *et al.*, 2015; Ajith *et al.*, 2017a); por su poca demanda de espacio, la adaptación a diversas condiciones climáticas, la facilidad de manejo, el bajo costo de mantenimiento, la alta prolificidad y la enorme demanda de productos (Iqbal *et al.*, 2015), por lo cual su salud es de vital importancia; el objetivo de este trabajo es caracterizar morfológica y genéticamente las especies de los piojos del género *Linognathus* presentes en caprinos.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En Sinaloa se desconocen las especies de piojos del género *Linognathus* presentes en los caprinos, además la poca importancia de estos según los productores por considerarlos una molestia en lugar de una amenaza; sin embargo son vectores responsables de transmitir bacterias como *Anaplasma ovis* y *Mycoplasma ovis* las cuales causan enfermedades en caprinos.

LLL. HIPÓTESIS.

La morfología y secuencia genética de piojos de cabras presentes en Culiacán Sinaloa, pertenecen al género *Linognathus*, especies *africanus* y *stenopsis*.

LV. OBJETIVOS.

6.1. Objetivo general: Caracterizar morfológica y genéticamente las especies de los piojos del género *Linognathus* presentes en caprinos.

6.2. Objetivo específico:

Identificar morfológicamente los piojos de caprinos.

Identificar genéticamente los piojos de caprinos.

V. MATERIAL Y MÉTODO.

El presente trabajo se realizara en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicado en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México; geográficamente ubicada en las coordenadas 24° 46' 18.68" latitud Norte y 107°21' 17.22" longitud Oeste, con una altura de 76 msnm, temperatura media anual de 24.8°C, con 33.3°C y 16.3°C como temperatura máxima y mínimas extrema; con

144, 159 y 92 días despejados, medio nublados y nublados al año, respectivamente; precipitación pluvial promedio anual de 676mm, el clima de la región es tropical seco (BWh y BSh) de acuerdo a la clasificación de Koeppen (INEGI, 2009). El tipo de estudio será transversal, observacional, descriptivo (Manterola y Otzen, 2014). No se tomara ningún criterio de inclusión siendo totalmente al azar. Los ectoparásitos se colectarán directamente de los caprinos y se aplicará una técnica de cepillado de ropa en cabras, para recoger los piojos de la piel del huésped de cuatro partes del cuerpo (dorso, extremidades, cuello y cola). Posteriormente, las muestras se colocaran en frascos universales con etanol al 70% (Seyoum, 2015); y se transportaran al laboratorio de parasitología para su análisis. Las muestras se colocarán en un microscopio estereoscópico y utilizando las claves dicotómicas realizadas por Furman y Catts en 1970 serán identificadas para conocer la clasificación. Se extraerá el ADN removiendo la cabeza del piojo del cuerpo, tanto la cabeza como el cuerpo se incubarán en un tampón de extracción (Qiagen) durante 42 h a 55° C se utilizará un kit de extracción de tejido Qiagen para la extracción de ADN siguiendo el protocolos del fabricante. Se identificarán genéticamente a los piojos secuenciando una parte del gen mitocondrial de la citocromo oxidasa 1 (CO1), utilizando el primer directo L6625 (5'-CCGGATCCTTYTGRTTYTTYGGNCAYCC-3') y reverso H7005 (5'-CCGGATCCACANCRTARTANGTRTCRTG-3'), se utilizará un termociclador Perkin Elmer 9700 con condiciones de reacción de 94 °C durante 2 min, 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 46 °C durante 30 s, 72 °C durante 30 s y 72 °C durante 7 min (Johnson *et al.*, 2002). Las muestras positivas resultantes de la amplificación por PCR del gen CO1 mitocondrial, serán secuenciadas mediante el sistema 3730XL Applied Biosystems®, en la empresa MacroGen inc, Seoul, Korea.

VI. LITERATURA CITADA.

1. Ajith, Y., Dimri, U., Gopalakrishnan, A., Gopinath Devi. 2017a. A study on prevalence and factors associated with ectoparasitism in goats of two agro-climatic regions in India. *J Parasit Dis* DOI: 10.1007/s12639-017-0881-y.
2. Ajith, Y., Dimri, U., Singh, S.K., Gopalakrishnan, A., Gopinath Devi , Verma, M.R., Vivek Joshi , Shahjahan Alam. 2017b. Lice induced immuno-oxidative wreckage of goats. *Veterinary Parasitology* 242: 24–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.05.019>.
3. Clayton, D.H., Johnson, K.P. 2003. Linking coevolutionary history ecological process doves and lice. *Evolution* 57: 2235-2241. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00245.x>.
4. Durden, L.A. Musser, G.G. 1994. The Sucking Lice (Insecta, Anoplura) Of The World - A Taxonomic Checklist With Records Of Mammalian Hosts And Geographical Distributions. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. 218: 38-43. DOI: <Go to ISI>://WOS:A1994MT46100001.
5. Durden, L.A., Mihalca, D.A., Sándor, A.D., Kanyari, P.W.N. 2014. A new species of sucking louse (Phthiraptera: Anoplura: Linognathidae) from Gunther's dikdik (*Madoqua guentheri*) in Kenya. *J Parasitol* 101: 140-104. Doi: 10.1645/14-616.1.

6. Eticha, E., Lemma, D., Abera, B., Selemon, H. 2017. Prevalence and Associated Risk Factors to Lice Infestation in Sheep of Arsi High Land, Oromiya Regional State, Ethiopia. *J Vet Sci Technol* 8: 1-4. DOI: 10.4172/2157-7579.1000425.
7. Hopla, C.E., Durden, L.A., Keirans, J.E. 1994. Ectoparasites and classification. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 13: 985-1017. Obtenido de <https://www.oie.int/doc/ged/D8933.PDF>.
8. Hornok, S., Hajtós I., Meli, M.L., Farkas, I., Gönczi, E., Meili, T., Hofmann-Lehmann, R. 2012. First molecular identification of *mycoplasma ovis* and '*candidatus m. haemoovis*' from goat, with lack of haemoplasma pcr-positivity in lice. *Acta Veterinaria Hungarica* 60: 355–360. DOI: 10.1556/AVet.2012.030.
9. Hornok, S., Hofmann-Lehmann, R., Fernández de Mera, I. G., Meli, M. L., Elek, V., Hajtós, I., Répási, A., Gönczi, E., Tánczos, B., Farkas, R., Lutz, H. and de la Fuente, J. 2010. Survey on blood-sucking lice (Phthiraptera: *Anoplura*) of ruminants and pigs with molecular detection of *Anaplasma* and *Rickettsia spp.* *Vet. Parasitol* 174: 335–338. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.09.003.
10. INEGI. 2009. Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática, Censo Agrícola Ganadero y Forestal. Obtenido de <http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/sin/clim.cfm?c=444&e=09>. Revisado 26/0219.
11. Iqbal, A., Siddique, F., Mahmood, M.S., Shamim, A., Zafar, T., Rasheed, I., Saleem, J., Ahmad, W. 2014. Prevalence and Impacts of Ectoparasitic Fauna Infesting Goats (*Capra hircus*) of District Toba Tek Singh, Punjab, Pakistan. *Global Veterinaria* 12: 158-164. DOI: 10.5829/idosi.gv.2014.12.02.8286.
12. Johnson, K.P., Williams, B.L., Drown, D.M., Adams, R.J., Clayton, D.H. 2002. The population genetics of host specificity: genetic differentiation in dove lice (Insecta: Phthiraptera). *Molecular Ecology* 11: 25–38. DOI: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.0962-1083.2001.01412.x?sid=nlm%3Apubmed&>.
13. Light, J.E., Hafner, M.S. 2007. Phylogenetics and host associations of Fahrenholzia sucking lice (Phthiraptera: *Anoplura*). *Systematic Entomology* 32: 359–370. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2006.00367.x.
14. Light, J.E., Smith, V.S., Allen, J.M., Durden, L.A., Reed D.L. 2010. Evolutionary history of mammalian sucking lice (Phthiraptera: *Anoplura*). *BMC Evolutionary Biology* 10:292. DOI: 10.1186/1471-2148-10-292.
15. Lozoya, S.A., Quiñones, L.S., Agirre, U.L.A., Guerrer, R.E. 1986. Distribución y abundancia de los piojos malófagos y anopluros del ganado ovino y caprino en la región de sal tillo, Coahuila, México. *Folia Entomológica Mexicana* 69: 117-125. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302030652>. Revisado el 28/01/19.
16. Manterola, C., Otzen, T. 2014. Estudios Observacionales. Los Diseños Utilizados con Mayor Frecuencia en Investigación Clínica. *Int. J. Morphol* 32: 634-645. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022014000200042>.
17. Rashmi, A., Saxena, A.K. 2017. Population levels of phthirapteran ectoparasites on the goats in Rampur (U.P.). *J Parasit Dis* DOI: 10.1007/s12639-017-0888-4.

18. Sánchez-Montes, S., Guzmán-Cornejo, C., León-Paniagua, L., Rivas, G. 2013. A checklist of sucking lice (Insecta: Phthiraptera: *Anoplura*) associated with Mexican wild mammals, including geographical records and a host-parasite list. *Zootaxa* 3722: 183–203. DOI: <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3722.2.4>.
19. Seyoum, Z., Tadesse, T., Addisu, A. 2015. Ectoparasites Prevalence in Small Ruminants in and around Sekela, Amhara Regional State, Northwest Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/216085>.
20. Snodgrass, R.E. 1944. The feeding apparatus of biting and sucking insects affecting man and animals. *Smithsonian. Miscellaneous Collections* 104:1-113. Obtenido de https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/22788/SMC_104_Snodgrass_1944_7_1-113.pdf. Revisado 26/02/19.
21. Xiong, H., Campelo, D., Pollack, R.J., Raoult, D., Shao, R., Alem, M., Ali, J., Bilcha, K., Barker, S.C. Second-generation sequencing of entire mitochondrial coding-regions (~15.4 kb) holds promise for study of the phylogeny and taxonomy of human body lice and head lice. *Medical and Veterinary Entomology* 28: 40–50. DOI:
Yong, Z., Pierre-Édouard Fournier, Rydkina, E., Raoult D. 2003. The geographical segregation of human lice preceded that of *Pediculus humanus capitis* and *Pediculus humanus humanus*.

Estatus poblacional DEI CAMARÓN AZUL *Penaeus stylirostris* (Stimpson, 1871), en la COSTA DE Sinaloa, México

Yanira Leyva Vázquez¹, Juan Francisco Arzola González², Gilberto Genaro Ortega Lizárraga³. GUILLERMO RODRÍGUEZ DOMÍNGUEZ², JORGE SAÚL RAMÍREZ PEREZ² y EUGENIO ALBERTO ARAGÓN NORIEGA⁴.

¹Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Región Sur. yannyleyva@hotmail.com

²Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, ³Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura, Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera en Mazatlán. ⁴ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

RESUMEN

En términos de valor, exportaciones y empleo, el camarón es el producto pesquero más importante de México, sin embargo, el estatus de esta pesquería es aprovechada al máximo sustentable. El camarón azul (*Penaeus stylirostris*) se considera la especie objetivo de esta pesquería, por lo que se requiere generar información biológica sobre su ciclo de vida, crecimiento, longitud de primera madurez, reclutamiento y es estatus del stock, que permitan aportar información para un mejor manejo del recurso. Se analizará la información de las bases de datos del Programa Camarón del Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura del periodo 2016-2018, proveniente de los muestreos de aguas protegidas, ribera y Altamar de las Bahías Santa María la Reforma y Ensenada del Pabellón Altata, que se caracterizan por ser importantes para el crecimiento y abundancia de esta especie, y de la base de datos de SIPESCA-CONAPESCA. El objetivo general es Determinar aspectos biológicos del camarón azul *P. stylirostris*, en aguas interiores y marinas de las lagunas de Santa María La Reforma y Ensenada del Pabellón Altata y estimar su biomasa poblacional en Sinaloa, México. Se determinarán las Relaciones biométricas mediante el modelo potencial. El crecimiento de los camarones se determinará con cuatro casos del modelo de Schnute modificado por Montgomery. El mejor modelo, será el de menor índice de AIC. Se determinará la talla de primera madurez mediante un modelo logístico. Para determinar el estatus del camarón azul en Sinaloa, se empleará el modelo de Ricker y el modelo dinámico de biomasa de Schaefer.

INTRODUCCIÓN

Las costas de México presentan franjas litorales con una extensión de 8,475 km a lo largo del Océano Pacífico y de 3,294 km a lo largo del Océano Atlántico y Golfo de México, de manera que la pesca constituye una de las principales actividades de mayor relevancia en nuestro país.

En México, el producto pesquero de mayor importancia es camarón. Esta pesquería aporta cerca de 500 millones de dólares, lo que representa aproximadamente 40 % del valor total de la producción pesquera nacional, además de generar alrededor de 37,000 empleos de forma directa o indirectamente (Ruiz-Luna *et al.*, 2010). En lo que respecta al Pacífico mexicano, la captura del camarón está representada por las siguientes especies: *Penaeus vannamei* “camarón blanco”, *P. stylirostris* “camarón azul”, *P. californiensis* “camarón café” y *P. brevirostris* “camarón rojo o cristal”, siendo el camarón azul el más importante y la especie objetivo por la mayoría de los pescadores del noroeste de México.

Durante la actividad pesquera del camarón, las embarcaciones artesanales, por su autonomía y características físicas, ejercen su esfuerzo pesquero en zonas cercanas a la costa donde habitan los camarones juveniles o adultos. Mientras, que la flota industrial, por su mayor autonomía y tamaño opera generalmente en aguas profundas, a una mayor distancia de la costa, en zonas donde con frecuencia ocurren los adultos.

Por lo anterior, esta pesquería se considera de tipo secuencial, lo que refleja la complejidad de los problemas que surgen cuando distintos grupos sociales, en zonas de pesca diferentes, aplican diferentes artes o métodos de pesca especializados para la captura de individuos de edades diferentes llegando a generar conflicto entre ambos sectores (Troadec, 1993). En este sentido, es necesario conocer algunos de los aspectos biológicos-poblacionales de *P. stylirostris* como especie objetivo, asimismo, analizar el seguimiento dentro y fuera de las bahías, así como en altamar con la finalidad de contemplar todo el ciclo de vida del camarón azul, especie considerada de mayor relevancia en Sinaloa, específicamente en las bahías de Santa María La Reforma y Ensenada del Pabellón Altata; las cuales se caracterizan por ser importantes para el crecimiento y abundancia de esta especie.

AREA DE ESTUDIO

Para efectos de este estudio, se analizará la información de los muestreos de las aguas protegidas y de la Ribereña del centro de Sinaloa en los siguientes ecosistemas: Santa María La Reforma (SMLR) y Altata-Ensenada del Pabellón (EPA) los cuales se caracterizan por presentar una amplia variedad de ambientes costeros interrumpidos por cuerpos acuáticos como lagunas, marismas y esteros; sitios de gran importancia para el crecimiento y abundancia del *P. stylirostris*.

JUSTIFICACIÓN

El recurso camarón, es el producto pesquero de mayor importancia en México en términos de valor, empleos y generación de divisas. Esta pesquería se considerada de tipo secuencial, es decir, en aguas protegidas y lagunas costeras donde generalmente se explota en su etapa juvenil, mientras que en etapa adulta, se captura en altamar, teniendo con frecuencia conflictos por la captura del camarón entre los sectores Ribereño y Altamar.

Además, el estatus de la pesquería de camarón en su conjunto, se considera aprovechada a su máximo sustentable. La región costera centro de Sinaloa como Santa María La Reforma y Altata-Ensenada del Pabellón, por sus características bióticas y abióticas se caracterizan por una importante zona para el crecimiento y abundancia del camarón azul (*P. stylirostris*), especie objetivo de ambos sectores Ribereño y Altamar. En este sentido, es necesario generar información específica sobre la posible distribución fragmentada entre la población del camarón azul entre la franja costera lagunar y de altamar, de tal forma que permita analizar las tasas de crecimiento, madurez sexual y de reclutamiento entre ambos ecosistemas.

HIPOTESIS

- La población de camarón azul de la región costera del centro de Sinaloa, está compuesta por dos fracciones con ciclos de vida diferentes que se manifiestan en diferencias en las tasas de crecimiento, madurez sexual y reclutamiento.
- La biomasa de la población de camarón azul en Sinaloa se encuentra al óptimo biológico

Objetivo general

Determinar aspectos biológicos del camarón azul *P. stylirostris*, en aguas interiores y marinas de las lagunas de Santa María La Reforma y Ensenada del Pabellón Altata y estimar su biomasa poblacional de Sinaloa, México.

Objetivos particulares

- Conocer la estructura de tallas.
- Obtener las relaciones biométricas de camarón azul.
- Estimar el crecimiento individual del camarón azul.
- Determinar la talla de primera madurez y talla de migración del camarón azul.
- Evaluar el status del stock del camarón azul en Sinaloa, México

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos que se utilizarán para el desarrollo de este proyecto se obtendrán de las bases de datos del programa “Camarón del Pacífico” del Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera en Mazatlán (CRIAP-MAZATLÁN), de los muestreos realizados en el periodo de 2015 al 2018, y de la base de datos de captura del SIPESCA.

Relaciones biométricas

Con las dimensiones registradas se realizará un análisis de regresión lineal de los logaritmos naturales de la longitud total (LT) y del peso total (PT) separado por sexos (asumiendo normalidad en los datos). La intersección (*a*) y la pendiente (*b*) de la regresión lineal se utilizarán para establecer la relación potencial entre la longitud del LT y el PT de la siguiente forma:

$$PT = e^{(\text{intersección}) * LT^{\text{pendiente}}} \quad \circ \quad PT = a * LT^b$$

Los intervalos de confianza a 95 % de los parámetros “a” y “b” (designados aquí como Φ) serán estimados con el error típico (ET) de las medias de a y b (Zar, 1999): $IC = \Phi \pm ET t_{n-1(95\%)}$

Estructura de la población

Se realizarán histogramas de frecuencias de tallas a intervalos de 5 mm de LT en cada muestreo. Cada grupo de edad presente en las muestras será separada y descrita por medio de una distribución normal cuyos parámetros serán la media μ_a , distribución estándar σ_a , y el número de organismos en ese grupo de edad (N_a).

Estimación de edad:

Los grupos de edad serán definidos de acuerdo a los siguientes criterios:

- a) Índice de separación de medias ≥ 2 (Sparre y Venema, 1998):
- b) Si hay incertidumbre acerca de si fue apropiado el número de grupos de edad seleccionados, se calculará el índice de Akaike (IA_c) corregido para muestras pequeñas:

Progresión modal

Una vez que se describan e identifiquen los parámetros de los grupos de edad, se graficarán de forma ordenada en el tiempo para visualizar la mejor progresión modal. Después de elegirán las progresiones modales para las medias de cada grupo de edad en cada progresión modal se graficarán en el tiempo para representar los patrones de crecimiento.

Crecimiento

Para estimar el crecimiento se utilizará el modelo de Schnute (1981) modificado por Montgomery *et al.* (2010) para aplicarlo al seguimiento de tallas medias por intervalos de tiempo. Como modelos candidatos para describir el crecimiento de los camarones se utilizarán cuatro casos del modelo de Schnute y un caso especial equivalente de la función de crecimiento de von Bertalanffy:

Para la selección del modelo, se basará en el enfoque de teoría de la información utilizando el índice de información de Akaike (AIC_c).

El modelo con el menor índice de akaike ($AIC_{c,min}$) se elegirá como el mejor modelo (Burnham y Anderson, 2002). Para cuantificar la plausibilidad de cada modelo, dados los datos y el conjunto de los modelos candidatos, se calculará el “peso de Akaike” de cada modelo (w_i).

Talla de primera madurez

Para determinar la talla de primera madurez se utilizarán los datos que se obtendrán a partir de las mediciones de los muestreos biológicos. Para determinar la longitud a la que el 50% de la población está madura, se tabularán las proporciones de los camarones maduros por sexos, por intervalo de longitud y se ajustarán a un modelo logístico.

Para ajustar el modelo se ajustará mediante la máxima verosimilitud

Migración

Se comparará la proporción de los organismos en aguas protegidas y la zona de ribera o altamar de las Bahías Santa María de la Reforma y Ensenada el pabellón Altata y se estandarizará el número de los individuos. Asimismo se ajustará un modelo logístico por medio iterativo utilizando la máxima verosimilitud como criterio de ajuste.

La talla de migración se calculará comparando las proporciones de tallas de individuos de las bahías y la zona marina.

Evaluación de la pesquería

Reclutamiento: Se utilizará como base el modelo de stock-reclutamiento (S-R) planteado por Ricker (1954) se establecerán relaciones entre el stock reproductor y el reclutamiento con un año de desfase. Primeramente se examinará mediante regresión no lineal el modelo clásico para la relación S-R.

El modelo también se ajustará con la máxima verosimilitud anteriormente descrita (Hilborn y Mangel, 1997).

Se empleará el Modelo de biomasa dinámica de Schaefer (Hilborn y Walters 1992) utilizando datos de las capturas anuales en toneladas, que se obtendrán de la base de información SIPESCA-CONAPESCA, y la Captura por Unidad de Esfuerzo (CPUE) será estimada utilizando el número de embarcaciones de la flota camaronera de arrastre que realiza la actividad pesquera en Sinaloa.

LITERATURA CITADA

Burnham, K. P. D. R. Anderson. 2002. Model selection and multi model inference: a practical information-theoretic approach, *Springer, New York* (2nd ed.): 1-488p. ().

Hilborn, R. and Walters, C.J.1992. Quantitative fisheries stock assessment, choice, dynamics and uncertainty. Chapman and Hall, London. doi10.1007/978-1-4615-3598-0

Montgomery, S. S., C.T. Walsh, M. Haddon, C. L. Kesby y D. D. Johnson. 2010. Using length data in the Schnute Model to describe growth in a metapenaeid from waters off Australia. *Mar. and Fres. Res.* **61**:1435-1445.

Ruiz-Luna, Arturo, Meraz-Sánchez, R & Madrid-Vera, J. (2010). Patrones de distribución de la abundancia de camarón comercial en el noroeste de México, modelados con sistemas de información geográfica. *Ciencias marinas.* 36 (1). 107-120p.

Sparre P, Venema SC. (1997). Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Manual. FAO Fish Tech. Pap. (306.1) Rev. 2: 420 pp.

Schnute J. 1981. A versatile growth model with statistically stable parameters. *Canadian Journ. Fish. Aqua. Scien.* **38(9)**: 1128- 1140.

Sparre P. y Venema S.C. 1998. Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1. Manual. *FAO Fish.* Manual técnico No. 306.1, Rev. 2. Roma, FAO. 407 pp.

Troadec, J,-P., (1983). Introducción a la ordenación pesquera: su importancia, dificultades y métodos principales. *FAO, Doc. Téc.Pesca*, (224): 60 p.

RESPUESTA INMUNE DE JUVENILES DE *Crassostrea gigas* BAJO CONDICIÓN DE ESTRÉS POR pH Y EN PRESENCIA DE *Vibrio harveyi*

Paola B. Arce Romero¹, Irasema E. Luis Villaseñor¹, Francisco. A. Flores Higuera, Martin G. Frías Espericueta¹, Nancy C. Saavedra Sotelo², José L. Carballo Cenizo²,
Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar.

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar.

p.arcer.facimar@uas.edu.mx

²[Catedra CONACYT. Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar](#)

³ Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología.

RESUMEN

Se evaluaron los impactos la acidificación y el calentamiento de los océanos en la respuesta inmune de semillas de *C. gigas* y la susceptibilidad al estrés ambiental ante una bacteria patógena. Para ello, se realizó un bioensayo con juveniles de *C. gigas* (0.313 ± 0.6 cm de longitud y 0.269 ± 0.05 cm dorso-ventral), los cuales fueron sometidos a un flujo constante de agua de mar con bajo pH, simulando las condiciones esperadas para el año 2100 (RCP 8.5), (pH 7.7) y actuales (8.1) así como dos temperaturas (25°C y $\sim 21^{\circ}\text{C}$), durante 4 semanas con 4 réplicas por tratamiento. Se determinó supervivencia, crecimiento y la expresión relativa de los genes: *ecSOD* y *Hsp68* por qPCR. Se tomó muestras cada semana, se preservaron en RNAlater y almacenaron a -80°C , posteriormente se hizo la extracción de RNA seguido de una síntesis de cDNA. Resultados obtenidos indican que no hubo diferencias significativas en supervivencia (ANOVA una vía $P=0.382$) ni en crecimiento (ANOVA una vía $P=0.108$). Sin embargo, en cuanto a la expresión génica de *ecSOD*, se observó una sobreexpresión a las 2 semanas de cultivo, siendo más evidente en el tratamiento a pH 7.7- 25°C . La expresión de *Hsp68*, se comportó similar a la expresión de *ecSOD*, sin embargo, la última semana no presentó diferencias entre tratamiento (ANOVA dos vías $p>0.05$), pero si entre tiempo ($p<0.05$). Estos resultados indican que la sobreexpresión de los genes *ecSOD* como *Hsp68* en los organismos cultivados a pH bajo y temperatura elevada (7.7 y 25°C) se debe al estrés ocasionado por estos dos factores ambientales, lo cual los hace más susceptibles y puede disminuir su resistencia a posibles infecciones por patógenos.

Palabras clave: *ecSOD*, *Hsp68*, expresión génica, qPCR, acidificación de océano.

ABSTRAC

The effects of acidification and warming of the oceans on the response in juvenile *C. gigas* seeds and the susceptibility to environmental stress to a pathogenic bacterium were evaluated. To do this, a bioassay was performed with juveniles of *C. gigas* (0.313 ± 0.6 cm in length and 0.269 ± 0.05 cm dorso-ventral), which were some of the results of a constant flow

of water with low pH, simulating the conditions expected for the year 2100 (RCP 8.5), (pH 7.7) and current (8.1) as well as two temperatures (25°C and ~ 21°C), during 4 weeks with 4 responses per treatment. The survival, growth and relative expression of the genes were determined: *ecSOD* and *Hsp68* by qPCR. Samples were taken every week, stored in RNA and stored at -80 °C, and then RNA extraction followed by cDNA synthesis. The results indicate that there are no differences in survival (ANOVA one way $P = 0.382$) or in growth (ANOVA one way $P = 0.108$). However, in *ecSOD* gene expression, overexpression is observed at 2 weeks of culture, being more evident in the treatment at pH 7.7-25°C. The expression of *Hsp68* behaved similarly to the expression of *ecSOD*, however, the last week did not show differences between the treatment (ANOVA two-way $p > 0.05$), but if between time ($p < 0.05$). These results indicate the overexpression of the *ecSOD* genes such as *Hsp68* in organisms grown at low pH and high temperature (7.7 and 25 °C) is due to a stress caused by these two factors, which is more susceptible and can decrease its resistance to possible infections by pathogens.

Key words: *ecSOD*, *Hsp68*, gene expression, qPCR, ocean acidification.

INTRODUCCIÓN

El aumento del CO₂ atmosférico se ha convertido en uno de los problemas ambientales más críticos con el desarrollo de las industrias, debido a que alrededor del 30% es absorbido por los océanos a través del intercambio químico directo (Sabine *et al.*, 2004). La alta absorción del CO₂ por el agua de mar produce un aumento neto de protones (H⁺) y una reducción en el pH, lo que finalmente conduce a la acidificación de los océanos (AO) (Qing *et al.*, 2015). Desde el comienzo de la Revolución Industrial, el pH de las aguas oceánicas ha disminuido en 0.1 unidades de pH. Dado que la escala de pH, es logarítmica, este cambio representa aproximadamente un 30 por ciento de incremento en la acidez de los océanos (PMEL, 2017) y se prevé que disminuya en otras 0,4 unidades a finales del siglo XXI (Caldeira y Wickett, 2003). Los organismos que se consideran en mayor riesgo por AO, son los calcificadores (Doney *et al.*, 2009). Debido a que se ha reportado que la AO tendrá un impacto no sólo en el crecimiento sino también en la ultra estructura de conchas de moluscos bivalvos (Dickinson *et al.*, 2012; Ivanina *et al.*, 2013; Coleman *et al.*, 2014; Fitzer *et al.*, 2014). Estudios previos han encontrado que el estrés de AO perjudica las rutas metabólicas energéticas de las ostras y la regulación podría afectar la función inmune de los moluscos bivalvos (Lanning *et al.*, 2010; Bibby *et al.*, 2008), y también retarda el crecimiento y un buen desarrollo normal (Dineshram *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2009). El sistema inmune de los ostiones se compone de mecanismos celulares y humorales tales como la fagocitosis, un proceso que implica la ingestión y destrucción de hemocitos, mientras que los mecanismos humorales incluyen los siguientes: 1) fenoloxidasa (PO), (Nappi y Vass, 1993; Vargas-Albores y Barracco, 2001; Luna-Acosta *et al.*, 2011); 2) la lisozima (McDade y Tripp, 1967; Itoh *et al.*, 2,010), y 3) El óxido nítrico (NO), (Rivero, 2006). A pesar de esto, la eficacia de los

mecanismos de defensa de los ostiones puede ser alterado por contaminantes, lo que provoca una mayor susceptibilidad en los organismos a enfermedades infecciosas (Gagnaire *et al.*, 2007). Las especies de oxígeno reactivo (ROS) se generan naturalmente en el transcurso del metabolismo respiratorio de todos los organismos. La producción excesiva de ROS induce la apoptosis causando daño celular y desequilibrio, así como la desnaturalización u obstrucción de diversas actividades enzimáticas (Wang *et al.*, 2007, Murugavel *et al.*, 2007). En consecuencia, una serie de defectos fisiológicos han dado como resultado un envejecimiento acelerado, una resistencia reducida contra las enfermedades y una fertilidad disminuida (Kim y Phyllis 1998). Para este tipo de ataques los organismos, implementan sistemas de defensa antioxidante para protegerse del estrés oxidativo. Estos sistemas consisten en enzimas (superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa) que juegan un papel importante en la protección de las células y el mantenimiento de la homeostasis mediante la eliminación de ROS (Rudneva 1999). Hasta hoy, solo unos pocos estudios han investigado los impactos del estrés de AO en los sistemas inmunes en bivalvos, equinodermos y crustáceos, que han resaltado el efecto negativo potencial de la reducción del pH del agua de mar en las respuestas de defensa del huésped de los invertebrados marinos.

Por lo tanto, el objetivo general de esta investigación es cuantificar genes de respuesta inmune de *C. gigas* bajo condiciones de estrés por pH y temperatura en presencia de *V. harveyi*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La AO está provocando una disminución de los niveles de saturación de los iones carbonatos (CO_3^{2-}), por lo que aumentan los niveles de saturación de iones bicarbonatos (HCO_3^-), siendo este último el más demandante energéticamente para su utilización en la biomineralización de organismos calcificantes como los moluscos bivalvos, aunado al aumento de temperatura ocasionada por el efecto invernadero, comprometiendo el gasto energético de estos organismos para procesos biológicos como la respuesta inmune y el crecimiento, haciéndolos susceptibles al ataque de patógenos presentes en el agua.

Para evaluar el estrés por factores ambientales como temperatura, pH y presencia de patógenos, se pueden evaluar la respuesta inmune celular y humoral de los organismos a nivel molecular. Los moluscos bivalvos cuentan con mecanismos de defensa de respuesta inmune que se expresan en diferentes genes para reducir el daño del estrés, tal como lo son los genes de la familia de las proteínas de choque térmico (HSPs), superóxido dismutasa (SOD), caspasa (Cas), entre otros.

Dado a lo anterior se plantean las siguientes preguntas de investigación:

¿El estrés por pH bajo y temperatura elevada, afecta la expresión de genes de respuesta inmune en juveniles de *C. gigas*? Por lo tanto, ¿serán más susceptibles a una infección bacteriana por *Vibrio harveyi*?

HIPÓTESIS

Los juveniles de *Crassostrea gigas* expuestos a estrés por pH bajo (7.7) y temperatura elevada (25°C) presentarán disminución de la expresión de genes de respuesta inmune celular y humoral. Este estrés por pH y temperatura provocará una mayor susceptibilidad en las larvas ante la presencia de *Vibrio harveyi*, lo que se ve reflejado en una baja supervivencia y crecimiento de las mismas.

OBJETIVO GENERAL

Cuantificar genes de respuesta inmune de *C. gigas* bajo condiciones de estrés por pH y temperatura en presencia de *V. harveyi*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Cuantificar el nivel de expresión del gen de estrés térmico Heat shock protein 68 (*Hsp68*) y Superóxido dismutasa extracelular (*ecSOD*) en juveniles de *C. gigas* expuestos a estrés por bajo pH y temperatura elevada.
2. Cuantificar mediante qPCR los niveles relativos de expresión de genes específicos, relacionados a la respuesta inmune en juveniles de *C. gigas* en exposición aguda al patógeno *V. harveyi*.
3. Analizar el efecto de *V. harveyi* en la supervivencia y crecimiento de juveniles de *C. gigas* bajo condiciones de estrés por pH y temperatura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tratamiento del agua de mar para los bioensayos de juveniles.

Para obtener el nivel de pH deseado de 7.7 se utilizará CO₂ proveniente de un tanque conectado a una válvula solenoide y un controlador de pH, se inyectará CO₂ a un tanque reservorio de mezcla mediante un vénturi con recirculación interna logrando un equilibrio en niveles de pCO₂ y pH.

El agua será bombeada del reservorio de mezcla a las unidades de cultivo para mantener un flujo continuo de agua de mar tratada y mantener constantes los parámetros dentro de las unidades de cultivo. Se utilizarán tanques reservorio de 200 L para realizar la mezcla de agua de mar y el CO₂ y obtener el nivel de pH deseado.

Efecto del pH y temperatura en juveniles de *Crassostrea gigas*

Se realizó un bioensayo de exposición de juveniles de *C. gigas* de 3-4 mm a condiciones de pH 7.7 y 8.1 y temperatura 25 y 21°C. Para este bioensayo, se obtuvo un lote de juveniles de *C. gigas* de la empresa ostrícola "Sol Azul S.A. de C.V", provenientes del laboratorio Tongoy S.A. (Chile) los cuales se sometieron a dos niveles de pH (7.7 y 8.1) y dos temperaturas ~21°C y 25°C, a una salinidad de 35 ups con flujo continuo de agua de mar (0.085 L min⁻¹), durante 30 días. En recipientes de plástico con un volumen de uso de 3 L, se colocó 1 tamiz construidos con tubos de PVC sanitario de 7.6 cm de diámetro y 16 cm de altura con un falso

fondo de malla Nytex de 1400 micras de luz y una descarga de 4.2 cm de diámetro en la parte superior de cada cilindro. En cada tamiz se colocaron 500 semillas.

Se utilizó agua de mar filtrada mediante filtros de cartucho con una apertura de 10, 5 y 1 μm y esterilizada mediante radiación UV, asimismo se suministró como alimento microalga *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros muelleri*, a una densidad de 125,000 cel $\cdot\text{mL}^{-1}$, (1:1) se utilizaron 4 réplicas por tratamiento. Así mismo, se utilizaron dos tanques de 200 L, uno para mezclar agua de mar y el CO_2 , y otro para el agua de mar sin tratamiento. De igual manera se realizó la toma de muestras para la cuantificación de genes de respuesta al estrés como *ecSOD* y *Hsp68* (Goncalves *et al.*, 2017).

Bioensayo de efecto del estrés por pH en el desarrollo, crecimiento y mortalidad de juveniles y *C. gigas*.

Para determinar la susceptibilidad de juveniles de *C. gigas* se realizó un bioensayo con el uso de juveniles de 56 días de edad (0.313 ± 0.6 cm de longitud y 0.269 ± 0.05 cm de dorso-ventral) las cuales se cultivaron con las condiciones de acidez (7.7) y la condición actual de pH (8.1) y temperatura (25°C). Diariamente se registró la temperatura y pH, cada tres días la alcalinidad, nitritos y fosfatos. Los juveniles de ostión se cultivaron en tanques de 5 L a una densidad inicial de 2000 juveniles por unidad experimental con cuatro replicas por tratamiento, el bioensayo tuvo una duración de 9 días. Posteriormente los juveniles de cada tratamiento fueron retados con *Vibrio harveyi*, con un inóculo de 10^7 ufc mL^{-1} , posteriormente se realizó la toma de muestra de larvas a las 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36 y 48 h después de la inoculación y se preservaron en RNAlater y almacenadas a -80°C . El RNA se extrajo de cada muestra por el método de Trizol siguiendo las especificaciones del fabricante. El RNA después fue tratado con una DNAsa RQ1 libre de RNAasas ($0.06\text{U}/\mu\text{L}$) (Promega, USA) a 37°C por 30 min para eliminar contaminación potencial de DNA genómico. El cDNA se sintetizó en un volumen final de $40 \mu\text{L}$ que contiene 2 μg de RNA total, la enzima M-MLV reverse transcriptase (Promega, USA) y el primer Oligo dT. Se analizó la integridad y la concentración de los ácidos nucleicos por medio de un espectrofotómetro Nanodrop Lite. Finalmente se procederá a la cuantificación de los genes de respuesta inmune.

Análisis de la respuesta inmune en juveniles de *C. gigas* bajo condiciones de estrés por pH y temperatura y retadas con *V. harveyi*

Se estimó el valor de expresión génica de cada uno de los genes relacionados con respuesta inmune (reconocimiento de patógenos, adhesión celular, encapsulación, fagocitosis, apoptosis, respuesta antioxidante) en juveniles de ostión, en exposición aguda a *Vibrio harveyi*, por medio del método de ciclo umbral comparativo o Cq comparativo, utilizando los valores de expresión de los genes constitutivos para la normalización de la expresión. Los genes de referencia apropiados como controles endógenos se determinarán a través de cuatro algoritmos computacionales (ΔCt , NormFinder, BesKeeper y GeNorm) que se integran en el paquete de software RefFinder, utilizando los valores Cqs para evaluar la estabilidad relativa. Se hicieron curvas estándar para cada gen con seis diluciones diferentes por triplicado de las muestras de pool de cDNA, se obtuvo la eficiencia de amplificación (E) a partir de la pendiente de la función log-lineal del factor de dilución frente a fluorescencia, y se analizó de acuerdo con la siguiente ecuación $E = 10^{-(-1 / \text{Slope})} - 1$ (Bustin, *et al.*, 2009). La

expresión relativa (RE) de los genes problema se calculó a partir de la relación de cantidades relativas (RQ) de cada muestra con la ecuación $RE = RQ_t / RQ_{nf}$, donde t es el gen diana y nf es el factor de normalización obtenido a partir de la media geométrica calculada a partir de la RQ de los genes de referencia más estables. Las cantidades relativas de cada muestra de los genes problema y de referencia se calcularon con la ecuación $RQ = (1 + E (Cq_{media} - Cq))$ (Hellemans, *et al.*, 2007).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los porcentajes de supervivencia obtenidos a partir de los bioensayos fueron transformados aplicando la raíz de arcoseno para su posterior análisis. Los valores de transformados, se contrastaron mediante un ANOVA de una vía y en caso de diferencias significativas ($p < 0.05$), se hizo una comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey $p < 0.05$.

Para analizar los valores de crecimiento final y las pruebas de reto bacteriano, se realizó la prueba de normalidad y homocedasticidad a los datos, y en caso de cumplir con los supuestos estadísticos se procedió a realizar un análisis de varianza de una vía (ANOVA, Tratamiento) y en caso de diferencias significativas ($p < 0.05$), se realizó una comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey. Los Ct's obtenidos de la expresión relativa fueron transformados a rangos para su posterior análisis. Los valores transformados fueron analizados mediante análisis de varianza de dos vías (tratamiento y tiempo), y en caso de existir diferencias significativas ($p < 0.05$), se realizó una comparación de medias de Tukey.

Los análisis estadísticos fueron realizados usando el software Sigma Plot 12.0 con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el primer objetivo de las 96 muestras obtenidas en el primer bioensayo, se les detecto la presencia de genes de referencia y genes blanco por PCR punto final, los productos fueron secuenciados y los resultados obtenidos en los alineamientos se comprobaron en la base de datos de GenBank, encontrado una similitud del 95 al 99%. Una vez obtenidos los resultados de secuencias, se realizó la cuantificación de expresión relativa para el gen blanco *ecSOD*, encontrando que los tratamientos de la segunda semana del pH 8.1 a 21°C y 7.7 a 25°C fueron estadísticamente diferente a todos los demás tiempos y tratamientos. Resultados similares fueron encontrados por Wang *et al.*, 2016; Qing *et al.*, 2015, quienes tuvieron una sobre expresión de *ecSOD* entre los 7 y 14 días, con una inhibición a los 28 días de exposición en *C. gigas*.

De igual manera se realizó la cuantificación para el gen *Hsp68* encontrando que el tratamiento de pH 8.1 a 21°C y 7.7 a 25°C de la segunda semana presentaron una sobre expresión presentando diferencias estadísticas respecto los otros tratamientos en todo el periodo de estrés. Qing *et al.*, 2015 en un experimento con *C. gigas* encontró que había una

inhibición total del gen después de los 28 días de cultivo ante una exposición de presión parcial alta de CO₂ (2000ppm) teniendo una expresión alta durante los primeros 7 y 14 días.

A pesar de presentarse una expresión relativa de los genes ante el estrés térmico y oxidativo, no se encontraron diferencias significativas en la supervivencia ante el estrés y durante el reto bacteriano, así como en el crecimiento en los juveniles del ostión, investigadores como Barton *et al.*, 2012, encontraron que en juveniles de esta misma especie a la exposición en agua de pH bajo puede causar un crecimiento y una supervivencia baja en el desarrollo temprano. No obstante, se han realizado diferentes estudios para conocer el efecto a nivel larval y postlarva en *C. gigas* como en otra especies de molusco, donde los resultados pueden ser muy contradictorios, puesto que unos afirman que si hay efecto y otros mencionan lo contrario. A pesar de que no hubo diferencias en supervivencia y crecimiento, se notó un cambio de coloración en la apariencia de las valvas, esto se corroboró con un análisis de microscopía electrónica de barrido, en el cual se observó que a partir del quinto día se logró ver la descamación de las conchas de los ostiones expuestos a pH 7.7 a 25°C esto debido a la baja concentración de los iones carbonato.

CONCLUSIONES

Los moluscos bivalvos tienen mecanismos de defensa, los cuales pueden verse afectados en su totalidad por la combinación de factores de estrés ambiental como la acidificación y el calentamiento de los océanos, sin embargo, no se observó un efecto negativo en la supervivencia y el crecimiento de los organismos de los tratamientos.

El patógeno *V. harveyi* en juveniles de *C. gigas* bajo condiciones de estrés, no causó mortalidad en dichos organismos, no obstante, los organismos presentan un efecto en la etología.

La ausencia de iones carbonato disponibles en el agua para la formación de valvas, se ve influenciado por el bajo pH presente, y debido a esto la estructura de sus valvas observa dañada.

LITERATURA CITADA

Asplund M. E., Baden S. P., Russ S., Ellis R.P., Gong N. and Hernroth B. E. 2014. "Ocean acidification and host-pathogen interactions: blue mussels, *Mytilus edulis*, encountering *Vibrio tubiashii*". *Environmental Microbiology* 16 (4), 1029–1039 DOI: 10.1111/1462-2920.12307.

Barton A., Hales B., Waldbusser G. G., Langdon C., Feely R. A. 2012. "The Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, shows negative correlation to naturally elevated carbon dioxide levels: implications for near-term ocean acidification effects". *Limnology and Oceanography* 57:698–710.

- Bibby R., Widdicombe S., Parry H., Spicer J., Pipe R., 2008. "Effects of ocean acidification on the immune response of the blue mussel *Mytilus edulis*". *Aquat. Biol.* 2-67e74.
- Caldeira K., y Wickett M.E. 2003. "Anthropogenic carbon and ocean pH". *Nature* 425: 365–365.
- Coleman D. W., Byrne M., y Davis A. R. 2014. "Molluscs on acid: gastropod shell repair and strength in acidifying oceans". *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 509:203–211.
- Dickinson, G. H., Ivanina A. V., Matoo O. B., Pörtner H.O., Lannig G., Bock C., Beniash E, Sokolova I.M. 2012. "Interactive effects of salinity and elevated CO₂ levels on juvenile eastern oysters, *Crassostrea virginica*". *J. Exp. Biol.* 215:29–43.
- Dineshram R., Thiyagarajan V., Lane A., Yu Z.N., Shu X., Leung P.T.Y. 2013. "Elevated CO₂ alters larval proteome and its phosphorylation status in the commercial oyster, *Crassostrea hongkongensis*", *Mar. Biol.* 160-2189e2205.
- Doney S.C., Fabry V.J., Feely R.A., Kleypas J.A. 2009. "Ocean acidification: the other CO₂ problem". *Annual Reviews Marine Science* 1:169–92.
- Fitzer, S. C., Phoenix V. R., Cusack M., y Kamenos N. A. 2014. "Ocean acidification impacts mussel control on biomineralisation". *Sci. Rep.* 4:6218.
- Gagnaire B, Gay M, Huvet A, Jean-Yves D, Saulnier D, Renault T. 2007. "Combination of a pesticide exposure and a bacterial challenge: in vivo effects on immune response of Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg)". *Aquat. Toxicol.* 84: 92-102.
- Itoh N., Okada Y., Takahashi K., Osada M. 2010. "Presence and characterization of multiple mantle lysozymes in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*". *Fish Shellfish Immunol.* 29: 126-135.
- Ivanina A. V., Dickinson G. H., Matoo O. B., Dickinson A., Beniash E., Sokolova I. M. 2013. "Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on energy metabolism and biomineralization of marine bivalves *Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*". *Comp. Biochem. Physiol.*, 166:101–111.
- Kim K.Y., Lee S.Y., Cho Y.S., Bang I.C., Kim K.H., Kim D.S. 2007. "Molecular characterization and mRNA expression during metal exposure and thermal stress of copper/zinc and manganese-superoxide dismutases in disk abalone, *Haliotis discus discus*". *Fish and Shellfish Immunology* 23:1043 59.
- Lannig G., Eilers S., Portner H.O., Sokolova I.M., Bock C., 2010. "Impact of ocean acidification on energy metabolism of oyster, *Crassostrea gigas* d changes in metabolic pathways and thermal response". *Mar. Drugs* 8-2318e2339.
- Luna-Acosta A., Saulnier D., Pommier M., Haffner P., Decker S., Renault T., Thomas-Guyon H. 2011. "First evidence of a potential antibacterial activity involving a laccase-type enzyme of the phenoloxidase system in Pacific oyster *Crassostrea gigas* haemocytes". *Fish Shellfish Immunol.* 31: 795- 800.

McDade J.E., Tripp M.R. 1967. "Lysozyme in the hemolymph of the oyster *Crassostrea virginica*". J. Invertebr. Pathol. 9: 531-535.

Miller A.W., Reynolds A.C., Sobrino C., Riedel G.F., 2009. "Shellfish face uncertain future in high CO₂ world: influence of acidification on oyster larvae calcification and growth in estuaries". PLoS One 4 (5) e5661.

Murugavel P., Pari L., Sitasawad S.L., Kumar S., Kumar S. 2007. "Cadmium induced mitochondrial injury and apoptosis in vero cells: Protective effect of diallyl tetrasulfide from garlic". The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39: 161-70.

Nappi A. y Vass E. 1993. "Melanogenesis and the generation of cytotoxic molecules during insect cellular immune-reactions". Pigment Cell Res. 6: 117-126,

Qing W., Ruiwen C., Ning X., You L., Mu C., Wang C., Wei L., Cong M., Wu H., Zhao J. 2015. "Effects of ocean acidification on immune responses of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*". Fish & Shellfish Immunology 49 (2016) 24e33

Rivero A. 2006. "Nitric oxide: an antiparasitic molecule of invertebrates". Trends Parasitol. 22: 219-225.

Rudneva II. 1999. "Antioxidant system of Black Sea animals in early development". Comparative Biochemistry and Physiology 112C:265-71.

Sabine C.L., R.A. Feely, Gruber N., Key R.M., Lee K., Bullister J.L., 2004. "The oceanic sink for anthropogenic CO₂". Science 305 367e371.

Vargas Albores F, Barraco M. 2001. "Mecanismo de defensa de los moluscos bivalvos, con énfasis en pectínidos". En: Maeda-Martínez A. (Editor), Los Moluscos Pectínidos en Latinoamérica: Ciencia y Acuicultura, Cap. 7, México, D.F., México: Editorial Limusa, pp 127-146,

Wang Q, Cao R, Ning X, You L, Mu C, Wang C, Wei L., Cong M. , Wu H. , Zhao J.2016. "Effects of ocean acidification on immune responses of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*". Fish Shellfish Immunol. 49:24–33.

Wang Y., Fang J., Leonard S.S., Rao K.M.K. 2004. "Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces Reactive Oxygen Species". Free Radical Biology & Medicine 36:1434-43.

EVALUACIÓN SOCIOECOLÓGICA DE LA PESCA RIBEREÑA DE PLAYA NORTE, MAZATLÁN SINALOA, ORIENTADA AL CO-MANEJO PESQUERO.

María de los Ángeles Lugo Manzano¹, Jorge Saúl Ramírez Pérez¹, Adreissa Lizette Páez Michel², Rebeca Sánchez Cárdenas¹, María de los Ángeles Maldonado Amparo¹ y Ramón Ismael Alvarado Vázquez³.

Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos; ¹Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa maria_facimar@uas.edu.mx; ² Universidad Autónoma de Sinaloa; ³Facultad de Ciencias Sociales, Universidad Autónoma de Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

La ordenación pesquera para el manejo de una pesquería hoy en día requiere más que una ordenación de los recursos y sistemas económicos, también se requiere del ordenamiento social y cultural de los pescadores. Las pesquerías son una actividad humana y por lo tanto resultan más complejas de entender y analizar por la relación o interacción de componentes sociales, políticos, económicos y culturales (McGoodwin, 2002; Defeo *et al.*, 2016). Es indispensable conocer la parte social de una pesquería e incluirla como un elemento clave para un buen manejo pesquero.

El panorama de la pesca en México nos deja ver que no se escapa del mal manejo en sus pesquerías, enfocaremos la mirada en el estado de Sinaloa, es uno de los principales estados que contribuyen en la producción pesquera del país, colocado en segundo lugar en la participación en el volumen de la producción pesquera nacional con el 19.36% siendo esta aportación de 339,227 toneladas en peso vivo, se encuentra en primer lugar en el valor total de la producción nacional con 5, 824,508 correspondiente al 24.6 % del total del valor de la producción pesquera nacional (DOF, 2016).

En la zona costera del municipio de Mazatlán se vive una problemática biológica y social poco alentadora debido al uso inadecuado que se ha hecho de los recursos pesqueros, existe un conocimiento insuficiente biológico y pesquero de las especies que sustentan la pesca ribereña; tampoco existe un conocimiento adecuado de los grupos humanos que desarrollan el proceso pesquero (Morán, 2009). Existen en esta zona costera cuatro sitios de embarque y desembarque de pescadores ribereños; estos son: Los Cerritos, Playa Norte, Playa Sur e Isla de la Piedra. En el municipio existe una problemática ambiental (mal uso del territorio, contaminación por aguas negras y contaminadas por empresas como ejemplo acuícolas vertidas a los cuerpos de agua etc.) que es muy compleja y diversa que impacta a las dos principales actividades económicas del municipio que son el turismo y la pesca, y por lo tanto la calidad de vida de los ciudadanos (Cruz y Morán, 2007).

La pesquería ribereña de pequeña escala de Playa Norte forma parte de la cultura del municipio, donde se captura una diversidad de especies de peces de manera temporal y que ha dado sustento a pescadores y sus familiares desde hace más de 100 años, una pesquería con una gran riqueza de conocimientos transmitidos a través de las generaciones. Este estudio busca contribuir en el conocimiento y mejoramiento de la pesquería de Playa

Norte, una de las pesquerías más importantes del municipio de Mazatlán Sinaloa, debido a su antigüedad forma parte de la cultura de Mazatlán además ha alimentado a la población por décadas con una forma de pesca amigable con el ambiente debido a su arte de pesca de anzuelo; es necesario poner atención en esta pesquería debido a que se encuentra en un descenso ecológico, social y por lo tanto económico (Morán, 2009). Para ello, está en curso una evaluación tanto social como ecológica de la pesquería, para tener un conocimiento más amplio que permita la planeación e implementación de estrategias de manejo.

En las pesquerías de pequeña escala, principalmente en los países en desarrollo, se ha implementado una nueva gobernanza adaptativa, que consiste en la adopción de acuerdos de co-manejo basados en la comunidad de pescadores que se basan en la idea de la sustentabilidad. El co-manejo se basa en compartir responsabilidades entre los gobiernos y los usuarios locales, destaca como un poderoso modelo de gobernanza para corregir los problemas de las pesquerías. Esta forma de organización exige la participación intensiva de los pescadores a través de la incorporación de su escrutinio y responsabilidad en los esquemas de gobernabilidad (Defeo *et al.*, 2016).

El co-manejo es eficaz para mantener pesquerías, se considera como una medida para detener la degradación de los recursos pesqueros, mejorar la equidad y mejorar la efectividad y la idoneidad de la gestión pesquera, lo que conduce a mejores condiciones socioecológicas de la pesca y una mayor capacidad de producción, siempre que estén presentes algunos atributos clave, por ejemplo: el requerimiento de un fuerte liderazgo social (Gutiérrez, Hilborn y Defeo, 2010; Thanh, Ross y Cotts, 2016; Defeo *et al.*, 2016).

Autores como Kosamu, (2015) y Thanh, Ross y Cotts, (2016) han hecho evaluaciones de diferentes pesquerías de pequeña escala donde ya se ha implementado el co-manejo con adaptaciones específicas de acuerdo a las características de cada caso. Los resultados obtenidos muestran que ha habido mejoras en aspectos de gran importancia, por ejemplo, la recuperación de sus recursos pesqueros y la reducción de problemas entre los usuarios. Sin embargo también hay que señalar que no en todas las pesquerías se obtuvieron resultados positivos. Esta situación se debió principalmente a problemas en la participación colectiva de los pescadores, el cual parece ser un factor clave para el éxito del co-manejo. .

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

La pesquería ribereña de Playa Norte, en sus cerca de 100 años de historia, ha pasado por buenos y malos momentos en sus aspectos sociales, ecológicos y económicos; Es un sitio con gran relevancia cultural que actualmente se encuentra en crisis por la baja captura y por el decreciente beneficio económico en que se traduce. Las artes de pesca de Playa Norte es artesanal (anzuelos) y de bajo impacto, pero la baja producción lleva a algunos pescadores a tomar la decisión de hacer uso de malas prácticas al pescar con anzuelos más pequeños y caen presas más pequeñas que quizás no han llegado a su talla de primera madurez agrandando su problema reduciendo aún más la producción pesquera. Además existe poco conocimiento biológico de los recursos que “sustentan” su pesquería y de la parte humana que realiza esta actividad. Se necesita generar información de los aspectos que la

conforman para poder proponer estrategias de co-manejo en la que los pescadores mejoren su situación social y económica al tiempo que garanticen la sustentabilidad de la pesquería y su permanencia en el puerto.

HIPÓTESIS

La participación social colectiva en todo el proceso de una pesquería es la base para obtener los beneficios de un co-manejo pesquero exitoso, obteniendo como resultado una pesquería sustentable en aspectos biológicos, sociales y económicos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar las condiciones ecológicas y sociales de la pesquería de Playa Norte del Municipio de Mazatlán Sinaloa, que permitan orientarla a un enfoque de co-manejo pesquero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a las especies de importancia comercial que sustentan las capturas de la pesca artesanal de Playa Norte en Mazatlán, Sinaloa.
- Establecer los indicadores biológicos de las especies de importancia comercial y su estatus de aprovechamiento.
- Describir las relaciones sociales y roles de trabajo de los pescadores de Playa Norte.
- Identificar posibles liderazgos en la pesquería.

METODOLOGÍA

Identificación de las especies de importancia comercial que sustentan las capturas de la pesca artesanal de Playa Norte en Mazatlán, Sinaloa.

Para la identificación de las especies que sustentan la pesquería comercial en Playa Norte, se analizarán las bases de datos de capturas de los pescadores de los años (pendiente la definición de los años que se analizarán), y se graficarán histogramas de frecuencias anuales y temporales de las especies con el objetivo de identificar cuáles son las especies de importancia presentes en las capturas.

Establecer los indicadores biológicos de las especies de importancia comercial y su estatus de aprovechamiento.

Una vez obtenidas e identificadas las especies de importancia para la pesca artesanal de Playa Norte se obtendrán los siguientes indicadores biológicos:

- ✓ *Estimación de la longitud asintótica (LT_{∞}):* Cuando no es posible determinar la edad y los parámetros de crecimiento a través de métodos directos, Binohlan y Froese (2000); Froese y Binohlan (2000) y Froese (2004) propusieron ecuaciones empíricas para determinar la longitud asintótica (SL_{∞}) de la ecuación de crecimiento von Bertalanffy (von Bertalanffy, 1938) de manera rápida y sencilla a través de simples regresiones lineales basados en registros de una cantidad importante de especies de peces de diferentes ambientes. Este parámetro será determinado de la siguiente manera:

$$\log_{10}(LT_{\infty}) = 0.044 + 0.9841 * \log_{10}(LT_{\max})$$

Donde LT_{\max} es la longitud total máxima registrada durante el periodo de muestreo.

- ✓ *Talla de madurez (LT_m):* La LT_m será definida como la talla en la cual el 50% de los organismos de la población se encuentran ya maduros (Somerton, 1980) tomando como base las fases III a V de la escala morfo cromática de Nykolsky (1963). La LT_m se calculará ajustando a un modelo logístico (Nevárez-Martínez *et al.* 2010; Velázquez-Abunader, 2012):

$$P_{m,i} = \frac{1}{1 + \exp^{-a(LT_i - LT_m)}}$$

Donde $P_{m,i}$ es la probabilidad acumulada de organismos con actividad reproductiva del i -ésimo intervalo de tallas, LT_m es la longitud de primera madurez y a es el intercepto.

Para los individuos que no se tengan registradas las fases de madurez, la talla de madurez será determinada mediante la siguiente ecuación empírica propuesta por Froese y Binohlan (2000):

$$\log LT_{\infty} = 0.044 + 0.9841 * \log (LT_{\max})$$

$$\log LT_m = 0.8979 * \log(LT_{\infty}) - 0.0782$$

TL_{\max} será obtenida de la talla máxima reportada para cada especie de la base de datos de FishBase.org.

- ✓ *Talla de rendimiento máximo por recluta (LT_{opt}):* Holt (1958) sugirió que a una talla determinada el pez alcanza su rendimiento máximo por recluta (LT_{opt}) y está estimada mediante el producto del número de organismos sobrevivientes multiplicado por su peso promedio dando como resultado la más elevada biomasa de toda la estructura poblacional y usualmente corresponde a una elevada producción de huevos (Beverton, 1992; Froese y Binohlan, 2000). Para simplificar la estimación de LT_{opt} Froese y Binohlan (2000) propusieron una relación lineal empírica basada en estimaciones de más de 1000 especies de peces, la estimación de LT_{opt} requiere solamente del valor de LT_{∞} y se estimará de la siguiente manera:

$$\log_{10}(LT_{opt}) = 1.0421 * \log(LT_{\infty}) - 0.2742$$

- ✓ *Talla de primera captura (LT_c):* La talla de primera captura (LT_c) será determinada con la frecuencia acumulada de la longitud total (LT) usando intervalos de 1 cm de LT . El valor de LT_c se estimará a través de un modelo logístico (Nevárez-Martínez et al., 2010; Velázquez-Abunader et al., 2012):

$$P_{m,i} = \frac{1}{1 + \exp^{-r(LT_i - LT_c)}}$$

Donde P_i es la probabilidad acumulada del i -ésimo intervalo de LT , LT_i es la marca de clase del i -ésimo intervalo de LT y r es el intercepto.

Una vez obtenidos los indicadores biológicos, se obtendrán histogramas de frecuencia de tallas y se ubicarán los puntos de referencia para evaluar si las prácticas de pesca llevadas a cabo por los pescadores de Playa Norte presentan una tendencia hacia la afectación de los stocks de peces que están siendo utilizados por la pesquería, a su vez, se cotejara con el estatus actual de aprovechamiento de cada especie que obtendremos de la Carta Nacional Pesquera y de la base de datos FishBase.org.

Describir las relaciones sociales de los pescadores de Playa Norte e identificar liderazgos en la pesquería.

Para este objetivo se realizará un estudio etnográfico que consistirá en dos puntos clave; el primero consiste en cinco entrevistas cualitativas semiestructuradas cara a cara: 2 entrevistas se llevarán a cabo a mediadores (individuos que no son parte de la pesquería pero que conocen bien a los pescadores) y las tres restantes a pescadores (de preferencia aquellos identificados con posturas distintas con respecto a la organización). Las entrevistas se grabarán y transcribirán. Para ambos tipos de entrevistas se solicitará consentimiento firmado de los participantes en la investigación; el segundo punto es la observación participativa: se llevará a cabo un registro de observaciones mediante una bitácora que incluirá notas descriptivas e interpretativas de los sucesos en los días de muestreo (un día por semana). Este muestreo se realizará por un periodo de seis meses. Adicionalmente se pretende recolectar evidencia fotográfica si las condiciones lo permiten.

LITERATURA CITADA

Anuario Estadístico de Pesca. 2016. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, Sagarpa, México.

Cruz T. M. L. y Morán. A. R. E. 2007. Pesca, medio ambiente y sustentabilidad en Sinaloa. Universidad Autónoma de Sinaloa. 240 p.

Defeo O., Castrejón M., Pérez R., Castilla J. C, Gutiérrez N, L., Essington T. E y Folke C. 2016. Co-management in Latin American small-scale shellfisheries: assessment from long-term case studies. *FISH and FISHERIES*, 17: 176–192. DOI: 10.1111/faf.12101.

Gutiérrez N. R, Hilborn R y Defeo O. 2010. Leadership, social capital and incentives promote successful fisheries. *NATURE*, VOL. 470: 386-389. DOI: 10.1038/nature09689

Kosamu I. B. M. 2015. Conditions for sustainability of small-scale fisheries in developing countries. *Fisheries Research*, 161: 365–373.

McGoodwin J. R. 2002. Comprender las culturas de las comunidades pesqueras. Clave para la ordenación pesquera y la seguridad alimentaria. Organizaciones de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Documento técnico de pesca 401.

Morán A. R. E. 2009. Elementos de Ordenamiento para la Pesquería Ribereña de escama y tiburón del Municipio de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis Doctoral. Universidad de Oriente Cuba. 227 p.

Poteete A. R, Janssen M. A y Ostrom E. 2012. Trabajar juntos: acción colectiva, bienes comunes y múltiples métodos en la práctica. México: UNAM, CEIICH, CRIM, FCPS, FE, IIEc, IIS, PUMA; IASC, CIDE, Colosan, CONABIO, CCMSS, FCE, UAM. 572 p.

Thanh H. N. T, Ross H y Costts J. 2016. Evaluation of social and ecological outcomes of fisheriesco-management in Tam Giang Lagoon, Vietnam. *Fisheries Research*, 174: 151–159.

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN INDIVIDUAL O COMBINADA DE EUBIÓTICOS EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y DIGESTIÓN TOTAL EN OVINOS

Octavio Zapata Ramírez

Autor: Octavio Zapata Ramírez ¹

Director de tesis: Dr. Alfredo Estrada Angulo ¹

Co-Director de tesis: Dr. Alejandro Plascencia Jorquera ²

Asesor: Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez ¹

Asesor: Dr. Jesús David Urías Estrada ¹

Asesor: Dr. Francisco Gerardo Ríos Rincón ¹

Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa. Correo electrónico: octaviozapata1092@outlook.com

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

² Instituto de Investigaciones de Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California

RESUMEN

Cuatro ovinos machos (Pelibuey x Katahdin; 45.1 ± 2.7 PVI) con cánulas tipo "T" en rumen y duodeno; utilizando un diseño experimental de Cuadrado Latino 4x4 fueron usados para evaluar los efectos de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en sus características de fermentación ruminal (FR) y digestión del tracto total (DTT). Se compararon cuatro tratamientos utilizando en común una dieta a base de maíz rolado adicionando a tres de los cuatro tratamientos una cantidad específica de eubióticos descrita como sigue: 1) Dieta basal sin eubióticos (**Testigo**), 2) Dieta basal suplementada con 3 g/ovino/día de microorganismos vivos de *Saccharomyces cerevisiae* (**SC**), 3) Dieta basal suplementada con 3 g/ovino/día de mannan-oligosacáridos, b-glucanos y metabolitos de levadura (**MOS**) y 4) Dieta basal suplementada con 1.5 g/ovino/día de SC más 1.5 g/cabeza/día de MOS (un total de 3 g/ovino/día) usando la combinación **SC+MOS**. Comparado con el grupo testigo, al suplementar **SC** hubo una tendencia ($P=0.09$) a incrementar la DTT de Materia Seca (MS) y Materia Orgánica (MO), así mismo, aumentó ($P<0.05$) la DTT de Nitrógeno (N), Almidón y Energía Digestible (ED) de la dieta. En tanto a Fibra Detergente Neutro (FDN) no se presentaron diferencias ($P=0.61$) en la DTT. Los ovinos suplementados con **MOS** mostraron una mayor DTT para FDN así como Almidón (+7.9% $P<0.01$). El grupo que recibió el tratamiento **SC+MOS** incrementó ($P\leq 0.03$) la DTT en todas las características evaluadas aumentando (4.2%, $P<0.01$) la ED de la dieta. Aunque, los ovinos que recibieron el tratamiento **MOS** mostraron una mejor digestión de FDN (+6.7%, $P=0.02$) que el tratamiento **SC**, la DTT para MS, MO, N, Almidón y ED fueron similares entre **SC** y **MOS** ($P\geq 0.24$). Comparando únicamente los ovinos de los grupos **SC** o **MOS** con **SC+MOS** este último tuvo un mejor resultado ($P<0.05$) en la DTT para N (+2.4%) y FDN (13 y 7% mayor que **SC** y **MOS** respectivamente). No hubo diferencias estadísticas al suplementar eubióticos en cuanto al pH ruminal medido 4 horas post-alimentación cuyo

promedio fue 5.79 ± 0.26 . La cantidad total de Ácidos Grasos Volátiles (**AGV**) mostró una tendencia ($P=0.08$) a verse incrementada por **MOS** y aumentó significativamente en el caso de **SC** y **SC+MOS** ($P=0.05$). La proporción molar acetato-propionato al igual que la producción de metano no se vio modificada por los eubióticos, aún así, dicha proporción tendió a elevarse en el caso de **MOS** y **SC+MOS** ($P=0.10$, 7.1%). La proporción molar de butirato y $N-NH_3$ disminuyó ($P \leq 0.03$). La suplementación de eubióticos a ovinos en etapa de finalización mejora la retención de N en la digestión de tracto total en cuanto a MO, FND y energía digestible de la dieta. La combinación de probióticos (SC) y prebióticos (MOS) potencia los efectos positivos de la digestión ruminal y la fermentación ruminal en ovinos alimentados con una dieta alta en energía.

Palabras clave: eubióticos, digestión, fermentación, ovinos.

ABSTRACT

Four male lambs (Pelibuey xKatahdin; 45.1 ± 2.7 kg initial weight) with "T" type cannulas in the rumen were used in a 4×4 Latin square experiment to evaluate the effects of single or combined supplementation of probiotics and prebiotics on total tract digestion (TTD) and ruminal fermentation (RF). Four dietary treatments were compared using a finishing corn-based diet supplemented with eubiotics as follows: 1) No eubiotics (Control); 2) basal diet supplemented with live *Saccharomyces cerevisiae* at dose of 3g /lamb/day (SC) , 3) basal diet supplemented with mannan oligosaccharide, β -glucans and yeast metabolites at dose of 3g /lamb/day (MOS), and 4) basal diet supplemented with 1.5 g/lamb/day SC plus 1.5 g/lamb/day MOS (a total 3g/lamb/day) with the combination SC+MOS. Compared to controls, SC supplementation tended ($P=0.09$) to increase TTD of DM and OM, and increased ($P<0.05$) TTD of N, starch, and digestible energy (DE) of diet, without effect ($P=0.61$) on NDF TTD. Lambs fed MOS shown greater NDF (7.9%, $P<0.01$) and starch TTD. Compared to controls, SC+MOS increased ($P \leq 0.03$) TTD of all fractions evaluated, increasing (4.2%, $P<0.01$) the DE of diet. Even though, that lambs received MOS shown greater (6.7%, $P=0.02$) NDF digestion than those received SC, the TTD of DM, OM, N, starch and DE diet were similar ($P \geq 0.24$) between SC and MOS. Comparing only with lambs fed with SC or MOS, the combination SC+MOS resulted in greater ($P<0.05$) TTD of N (an average of 2.4%) and NDF (13 and 7% greater than SC and MOS, respectively). There were no effects of supplemental eubiotics on ruminal pH measured 4 h post-feeding averaging 5.79 ± 0.26 . Total ruminal VFA tended ($P=0.08$) to increase by MOS, and was increased ($P<0.05$) by SC and by SC+MOS combination. Molar proportion of acetate tended ($P=0.10$) to increase 7.1% only by MOS and SC+MOS supplementation. Molar proportion of butyrate and ruminal $N-NH_3$ concentration were decreased ($P \leq 0.03$) by eubiotic supplementation.. Eubiotics supplementation in lambs fed a finishing diet improve N retention and total tract digestion of OM, NDF, and digestible energy of diet. The combination of probiotic (SC) plus prebiotic (MOS) potentiate the positive effects on digestion and ruminal fermentation in lambs fed a high-energy diets.

Keywords: eubiotics, digestion, fermentation, lambs.

INTRODUCCIÓN

Debido a la preocupación existente dado el uso de la suplementación con niveles sub-terapéuticos de antibióticos como aditivos alimenticios, además del efecto que estos pueden tener al aumentar la resistencia a los antibióticos en la salud humana; se ha incrementado la búsqueda de aditivos alternativos u orgánicos. Así, dentro del grupo de aditivos alternativos, los llamados Probióticos y Prebióticos (eubióticos) han ganado amplia popularidad debido a distintos beneficios que han demostrado en diversas investigaciones recientes.

Los probióticos son microorganismos vivos que tienen la habilidad de modular el balance y las actividades gastrointestinales, por ello son considerados benéficos para el organismo de los animales. Estos son definidos como aditivos alimenticios compuestos a base de microorganismos vivos, los cuales, no se consideran patógenos para la microbiota gastrointestinal y lo benefician, creando un balance positivo en el huésped (Fuller, 1989; Rook and Brunet, 2005). Diversas especies microbianas principalmente bacterias (ácido lácticas o no ácido lácticas), levaduras u hongos son consideradas probióticos (Tripathi *et al.*, 2008), dichos organismos son genéticamente estables, capaces de producir sustancias antimicrobiales y modificar la biota intestinal en favor de una composición más saludable que provocará un mejor status de bienestar en el animal (Kaur *et al.*, 2002, Paravez *et al.*, 2006). El término prebióticos fue definido por Gibson y Roberfroid (1995) quienes los describen como ingredientes alimenticios no digeribles que afectan positivamente la salud del huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de un determinado número de bacterias en el colon. Dicha definición se actualizo con los siguientes conceptos: ingredientes fermentados selectivamente los cuales provocan cambios específicos, en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal lo cual confiere beneficios al bienestar y salud del huésped (Gibson *et al.*, 2004). Los prebióticos son mezclas de oligosacáridos indigestibles (como fructanos o galactanos) los cuales consisten en monómeros de 3 a 10 carbohidratos, principalmente se extraídos de algunas plantas como la soya y la avena (Saad *et al.*, 2013). Al usar Probióticos y Prebióticos (eubióticos), en diversos reportes se ha documentado que tienen la habilidad de mejorar la actividad intestinal debido a que estimulan el desarrollo del ecosistema microbiano (Uyeno *et al.*, 2015), incrementan la capacidad digestiva (Oyetayo y Oyetayo, 2005), y previenen la colonización de diversos patógenos en el intestino (Casas y Dobrogosz, 2000), regulan el pH, además de que mejoran la inmunidad de las mucosas y la absorción de nutrientes (Timmerman *et al.*, 2005; Uyeno *et al.*, 2015).

Como resultado de las anteriores publicaciones, podríamos concluir en términos generales que los eubióticos mejoran la salud y el proceso digestivo de los rumiantes, sin embargo, tanto probióticos como prebióticos tienen un diferente mecanismo de acción bajo distintas circunstancias. Así mismo, la combinación de probióticos y prebióticos ha tenido resultados positivos en ganado lechero y terneros incrementando la salud a comparación de la administración individual de los antes mencionados (Radzikowski, 2017). No obstante, la información disponible es muy limitada en cuanto a los efectos de suplementación combinada de probióticos y prebióticos en características de digestión y fermentación ruminal en ovinos.

HIPÓTESIS

La suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos modificará las características de fermentación ruminal y digestión del tracto total a ovinos canulados alimentados con dietas para etapa de finalización.

OBJETIVOS

Conocer el efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en las características de fermentación ruminal y digestión del tracto total en corderos alimentados con dietas para etapa de finalización.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Conocer el efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en las características de fermentación ruminal y digestión de nutrientes en ovinos canulados alimentados con dietas para etapa de finalización.

Conocer el efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en el pH ruminal así como la síntesis de proteína microbiana en ovinos canulados alimentados con dietas para etapa de finalización.

Conocer el efecto de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en la producción de metano a través de su proporción de AGV's en ovinos canulados alimentados con dietas para etapa de finalización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos de manejo de animales en ambos experimentos se realizaron dentro de las pautas de técnicas aprobadas nacionalmente para el uso y cuidado de animales (NOM-051-ZOO-1995: Cuidado humanitario de los animales durante su movilización; NOM-062-ZOO-1995: Especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio granjas de ganado, granjas, centros de producción, reproducción y cría, zoológicos y sala de exposiciones, deben cumplir con los principios básicos de bienestar de los animales; NOM-024-ZOO-1995: estipulaciones de salud animal y características durante el transporte de animales. Dichas normas reguladoras se encuentran en concordancia con los principios específicos y lineamientos descritos en IACUC-290-30 así como en las pautas para el cuidado y uso de animales en la enseñanza e investigación agropecuaria (Federation of Animal Science Societies [FASS] 2010).

El experimento se llevó a cabo en la Unidad Experimental de Metabolismo perteneciente al Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California Ubicada 10 km al sur de la ciudad de Mexicali en el noroeste de México (32° 40' 7"N y 115° 28' 6"W). Dicha ciudad se encuentra a una altura de 10 msnm, y cuenta con condiciones climáticas similares al desierto de Sonora (BWh de acuerdo a la clasificación de Köppen)

Animales, Dietas y Toma de muestras.

Cuatro ovinos machos (Pelibuey x Katahdin; 45.1 ± 2.7 PVI) con cánulas tipo "T" en rumen y duodeno; utilizando un diseño experimental de Cuadrado Latino 4x4 fueron usados para evaluar los efectos de la suplementación individual o combinada de probióticos y prebióticos en sus características de fermentación ruminal y digestión del tracto total. Estos fueron tratados contra parásitos intestinales (Ivermectin, Vetoquinol, México), se les administro vía intramuscular vitaminas A, D, E (Synt-ADE, Fort Dodge, Animal Health, México) y fueron alojados en corraletas individuales (1.5 x 1.8 x 0.7 m) con con bebederos automáticos dentro de una unidad completamente techada y cercada en su periferia. Se compararon cuatro tratamientos utilizando en común una dieta a base de maíz rolado adicionando a tres de los cuatro tratamientos una cantidad específica de eubióticos descrita como sigue: 1) Dieta basal sin eubióticos (Testigo), 2) Dieta basal suplementada con 3 g/ovino/día de microorganismos vivos de *Saccharomyces cerevisiae* (SC), 3) Dieta basal suplementada con 3 g/ovino/día de mannan-oligosacáridos, b-glucanos y metabolitos de levadura (MOS) y 4) Dieta basal suplementada con 1.5 g/ovino/día de SC más 1.5 g/cabeza/día de MOS (un total de 3 g/ovino/día) usando la combinación SC+MOS. Las dosis de eubióticos fueron pesadas a mano utilizando una báscula de precisión (Ohaus, mod AS612, Pine Brook, NJ, USA) y se ofrecieron a los ovinos añadidas en forma de aderezo en proporciones similares al momento de la alimentación. Se utilizó Óxido Crómico (3.0 g/kg MS) como marcador indigestible para estimar el flujo de nutrientes y la digestibilidad. El óxido crómico fue incorporado a la premezcla mineral en una revolvedora de cemento (modelo 30910-7, León Weill, SA, Coyoacán México) mezclando durante 5 minutos antes de ser incorporado al resto de los ingredientes de la dieta (excepto los eubióticos los cuales se ofrecieron al momento de la alimentación). Todos los ovinos tuvieron un periodo de adaptación a la dieta basal de 21 días previos al inicio del experimento. Para evitar rechazos de alimento durante la fase experimental, el consumo diario de alimento (base húmeda) fue restringido a 1.275 kg (equivalente al 90% del consumo *ad libitum* registrado en los 21 días de adaptación). La porción correspondiente de alimento se dividió en dos proporciones iguales para ser ofrecida a las 0800 y 2000 horas diariamente. El experimento tuvo una duración de 84 días divididos en cuatro periodos experimentales, cada uno de 21 días de los cuales en 14 se ofreció el producto y 3 de estos fueron para la recolección y toma de muestras, utilizando los 7 días restantes para retirar el producto y evitar efectos de arrastre. Durante los días de recolección, muestras fecales y ruminales fueron obtenidas de cada uno de los ovinos, las cuales formaron una muestra compuesta para su póstumo análisis. Las muestras fecales se pesaron, identificaron y congelaron a -20 °C. Para determinar el pH así como la concentración Ácidos Grasos Volátiles, al final de cada periodo de colecta fue obtenida de cada ovino una muestra de contenido ruminal (100 ml aproximadamente) correspondiente a 4 horas después de haber sido alimentados. Esta muestra fue obtenida con una bomba de vacío (Cole Parmer Instrument, Vernon Hill, IL) y un tubo de tygon ($\frac{3}{4}$ "; USP Lima, Ohio). El pH ruminal fue medido inmediatamente de las muestras frescas obtenidas utilizando un potenciómetro (Orion 261S, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA), seguido a esto las muestras fueron agitadas vigorosamente se separaron 10 ml y almacenaron a -20 °C para realizar análisis moleculares futuros. El resto de la muestra ruminal se filtró a través de cuatro capas de tela yute. A 8 ml se les añadió un preparado de ácido meta-fosfórico al 25% (2 ml), se centrifugaron las

muestras (17,000 × g por 10 min) y se congelaron para realizar el análisis de AGV's. Para análisis de N amoniacal, 10 ml de fluido ruminal (obtenido 2 y 4 horas post-alimentación) fue acidificado con 0.5 ml de 6 N HCL y almacenado a una temperatura de -20 °C.

Las muestras de alimento así como muestra fecales se sometieron a los siguientes análisis; Materia Seca (se introdujeron muestras a una estufa de secado a una temperatura constante de 105 °C hasta que no se registró pérdida de peso; método 930.15; AOAC, 2000); Proteína Cruda (Nx 6.25, método 984.13; AOAC, 2000); Cenizas (método 942.05; AOAC, 2000); FNDom [Van Soest *et al.*, 1991, corregido para FND-cenizas, incorporando calor estable de α-amilasa (Ankom Technology, Macedon, NY) a 1 ml por 100ml de solución de FND (Midland Scientific, Omaha, NE)]; Almidón (Zinn, 1990), Óxido crómico (Hill y Anderson, 1958); Energía Neta (utilizando la bomba adiabática modelo 1271; Parr Instrument Co., Moline, IL, USA).

Concentración ruminal de AGV's se midió por cromatografía de gases (Zinn, 1988), la producción de metano se calculó basado en la fermentación observada en el balance de la distribución molar de AGV's (Wolin, 1960) y N amoniacal en fluido ruminal de acuerdo a los procedimientos adaptados de Fawcet y Scott (1960).

Análisis estadístico

Para determinar el efecto de los tratamientos los datos obtenidos fueron analizados como un cuadrado latino 4x4 utilizando los procedimientos de MIXED por el paquete estadístico SAS (2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparado con el grupo testigo, al suplementar SC hubo una tendencia (P=0.09) a incrementar la digestión de tracto total de Materia Seca (MS) y Materia Orgánica (MO), así mismo, aumentó (P<0.05) la digestión en tracto total de Nitrógeno (N), Almidón y Energía Digestible (ED) de la dieta. En tanto a Fibra Detergente Neutro (FDN) no se presentaron diferencias (P=0.61) en la digestión de tracto total. Los ovinos suplementados con MOS mostraron una mayor Digestión de Tracto Total para FDN así como Almidón (+7.9% P<0.01), y se cuantificó una tendencia a mejorar la Digestión de Tracto Total para MS (P=0.09), N (P=0.07) y ED (P=0.07) en comparación al grupo Testigo. El grupo que recibió el tratamiento SC+MOS incrementó (P≤0.03) la Digestión de Tracto Total en todas las características evaluadas aumentando (4.2%, P<0.01) la ED de la dieta.

En relación al grupo testigo, se incrementó la digestibilidad de MO y ED de la dieta debido al suministro de probióticos o prebióticos ya que estos acrecentan la MO como resultado de incrementos en la digestibilidad de FND y N. En diversos experimentos (Chaucheyras-Durand *et al.*, 2008, Di Francia *et al.*, 2008) se ha observado que la digestibilidad de fibra se ve aumentada considerablemente al suplementar probióticos o prebióticos como aditivo, provocado probablemente por el estímulo a la multiplicación de las bacterias celulolíticas dentro de la microbiota ruminal (Yoon y Stern, 1996; Bomba *et al.*, 2002) y esto a su vez aumenta la actividad de la fermentación ruminal. Las actividades fermentativas de las

bacterias especialmente las celulolíticas, se ha reportado maximizan sus funciones al suplementar eubióticos dando como resultado una mejora importante en cuanto a digestibilidad de la fibra (El-Waziry e Ibrahim, 2007).

El incremento en la digestión de tracto total para N en ovinos suplementados con eubióticos puede ser provocado por una menor degradación ruminal de N dietético (como se expone a continuación, se detectó una menor concentración ruminal de N-NH₃ en corderos suplementados con eubióticos) , lo que promueve mayores flujos de N dietético al intestino delgado y (o) por aumentos en el flujo duodenal de N microbiano (el cual no fue medido en el presente experimento); no obstante, en un reporte previo (Williams *et al.* , 1990) indicaron un incremento en el flujo de proteína hacia el duodeno en ovinos suplementados con la cepa *Saccharomyces cerevisiae*. Así mismo, Plascencia *et al.* (2017) reportaron que en novillos, el consumo de una combinación estandarizada de eubióticos incrementa el flujo hacia el duodeno de N microbial, este efecto promueve una mayor eficiencia de la microbiota ruminal así como del N dietético. Los investigadores antes mencionados encontraron que los novillos suplementados con eubióticos mostraron un incremento a la digestión post-ruminal de N, esto pudo ser debido a un aumento en el flujo de NNA hacia el duodeno.

Aunque, los ovinos que recibieron el tratamiento MOS mostraron una mejor digestión de FDN (+6.7%, P=0.02) que el tratamiento SC, la Digestión de Tracto Total para MS, MO, N, Almidón y ED fueron similares entre SC y MOS (P≥ 0.24). Comparando únicamente los ovinos de los grupos SC o MOS con SC+MOS este último tuvo un mejor resultado (P<0.05) en la Digestión de Tracto Total para N (+2.4%) y FDN (13 y 7% mayor que SC y MOS respectivamente). El resto de la fracciones evaluadas fueron digeridas de forma similar entre corderos que fueron alimentados con eubióticos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, coincidimos con previos reportes realizados donde afirman que la combinación de probióticos y prebióticos ha mostrado efectos positivos en ganado lechero mayor así como en becerros lactantes, al incrementar rasgos específicos de salud comparados con animales que recibieron probióticos o prebióticos individualmente (Radzikowski, 2017).

En tanto al pH ruminal no hubo efectos al medirlo 4 horas post-alimentación, promediando 5.79± 0.26, dicho promedio se encuentra en concordancia a la predicción hecha basado en la formulación de la dieta (5.78; NRC, 2000, Nivel 1). Los grupos MOS y SC+MOS mostraron una tendencia (P=0.09) a aumentar el pH respecto a los demás grupos Testigo y SC (5.65 vs 5.94). Los efectos de la suplementación de probióticos en ovinos no han sido descritos claramente. Algunos no han encontrado efecto en el pH ruminal de ovinos (Doreau *et al.*, 1998, Tripathi *et al.*, 2008, López-Soto *et al.*, 2013); otros han reportado un incremento (Radev, 1999, Khadem *et al.*, 2007) y en contraste Kowalik *et al.* (2011) y Tripathi y Karim (2011) observaron una reducción después de suplementar con varias cepas de *S. cerevisiae*. Por otra parte Chaucheyras-Durand *et al.* (2012) comparten su postura afirmando que los probióticos estabilizan el pH ruminal provocando un mejor funcionamiento ruminal, por ende previniendo el riesgo de sufrir acidosis ruminal aguda o sub-aguda (Lettat *et al.*, 2012).

Los AGV's mostraron una tendencia a verse incrementados por MOS (P=0.08), y aumentaron (P<0.05) con SC y SC+MOS. El incremento de loa AGV's es consistente con la

mayor cantidad de digestibilidad de MO. Considerando que el 80% de la MO digestible consumida es fermentada en el rumen (Plascencia y Zinn, 2017); no es aberrante suponer que los aumentos en la digestión de MO en el tracto total observados en el presente experimento, podrían explicarse por aumentos en la digestión ruminal de MO.

La proporción molar de acetato-propionato y producción de metano no se vio afectada al suplementar eubióticos. Sin embargo, dicha proporción mostró una tendencia ($P=0.10$) a incrementar 7.1% en el caso de MOS y SC+MOS. La proporción molar de butirato disminuyó ($P<0.03$) al suplementar eubióticos. La concentración de N-NH₃ ruminal decreció ($P\leq 0.01$) al suplementar los aditivos, este efecto puede ser atribuido a la disminución de la proteólisis y desaminación de aminoácidos. En general, el uso de levaduras incrementa los AGV's y reduce la concentración de N-NH₃ (Abd El-Tawab 2016, Bakr *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

Dadas las condiciones bajo las que se realizó el presente experimento podemos afirmar en términos generales que la suplementación de eubióticos a ovinos machos alimentados con dietas para etapa de finalización mejoró la retención de N así como la digestión de tracto total en las fracciones de MO, FDN y energía digestible de la dieta. Así mismo observamos que la combinación de probióticos (SC) y prebióticos (MOS) potencia los efectos positivos en cuanto a digestión y fermentación ruminal.

LITERATURA CITADA

- Abd El-Tawa, M.M., I.M.I. Youssef, H.A. Bakr, G.C. Fthenakis y N.D. Giadinis. 2016. Role of probiotics in nutrition and health of small ruminants. *Polish J. Vet. Sci.* 19: 893–906.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD
- Bakr, H.A., M.S. Hassan, N.D. Giadinis, N. Panousis, D. Ostojic, M.M. Abd El-Tawab y J. Bojkovski. 2015. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on health and performance of dairy cows during transition and early lactation period. *Biotechnol. Anim. Husb.* 31:349–364.
- Bomba, A., R. Nemcova, D. Mudronova y P. Guba. 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends Food Sci. Technol.* 13: 121–126.
- Casas, I.A., y W.J. Dobrogosz .2000. Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad spectrum protection against disease in humans and animals. *Microb. Ecol. Health Dis.* 12:247-285.
- Chaucheyras-Durand, F., E. Chevaux, C. Martin y E. Forano. 2012. Use of yeast probiotics in ruminants: Effects and mechanisms of action on rumen pH, fibre degradation, and microbiota according to the diet. In: E.C. Rigobelo (Ed.) *Probiotic in Animals*. InTech, Rijeka, Croatia. Pages 119–162.

- Chaucheyras-Durand, F., N.D. Walker y A. Bach. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:5-26.
- Di Francia A., F. Masucci, G. De Rosa, M.L. Varricchio y V. Proto. 2008. Effects of *Aspergillus oryzae* extract and a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on intake, body weight gain and digestibility in buffalo calves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 140: 67-77.
- Doreau, M. y J.P. Jouany. 1998. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 81:3214–21.
- El-Waziry, A.M. y H.R. Ibrahim. 2007. Effect of *saccharomyces cerevisiae* of yeast on fiber digestion sheep fed berseem (*trifolium alexandrinum*) hay and cellulose activity. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 1:379-385.
- FASS. 2010. Federation of Animal Science Societies (FASS). Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. 3rd ed. Champaign, IL, Federation of Animal Science Societies.
- Fawcett, J. K. y J. E. Scott. 1960. A rapid and precise method for the determination of urea. *J. Clin. Pathol.*13:156-159.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. A review. *J. Appl. Bacteriol.* Vol 66: 635.
- Gibson, G. R. y M.B. Roberfroid. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition.* 125;1401–1412.
- Gibson, G. R., H.M. Probert, J. Van Loo, R.A. Rastall, y M.B. Roberfroid. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews.* 17, 259–275.
- Kaur, I.P., K. Chopra y A. Saini. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur. J. Pharm. Sci.* 15: 1-9.
- Khadem. A.A., M. Pahlavan, A. Afzalzadeh y M. Rezaeian. 2007. Effect of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on fermentation parameters and microbial populations of rumen, total tract digestibility of diet nutrients and on the “in situ” degradability of alfalfa in Iranian Chall sheep. *Pakistan J. Biol. Sci.* 10:590-597.
- Kowalik, B., T. Michałowski, J.J. Pająk, M. Taciak y M. Zalewska. 2011. The effect of live yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, and their metabolites on ciliate fauna, fibrolytic and amylolytic activity, carbohydrate digestion and fermentation in the rumen of goats. *J. Anim. Feed Sci.* 20: 526-536.
- Lettat, A., P. Noziere, M. Silbergberg, D.P. Morgavi, C. Berger y C. Martin. 2012. Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. *B.M.C. Microbiology.*12: 142-156.

- López-Soto, M.A., Y.S. Valdés-García, A. Plascencia, A. Barreras, B.I. Castro-Pérez, A. Estrada-Angulo, F.G. Ríos, A. Gómez-Vázquez, L. Corona y R.A. Zinn. 2013. Influence of feeding live yeast on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in steers fed a steam-flaked corn-based diet. *Acta Agric. Scand. Section A*.63:39-46.
- Oyetayo, V.O. y F.L. Oyetayo. 2005. Potential of probiotics as biotherapeutic agents targeting the innate immune system. *Afr. J. Biotech.* 4:123-127.
- Paravez, S., K.A. Malik, S. Ah-Kang y H.Y. Kim. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Appl. Microbiol.* 100:1171-1185.
- Plascencia, A. y R.A. Zinn. 2017. The rumen is not a “black box”. *AFMA Matrix. The AFMA Symposium Edition. Plaas Media Pub.* 26:40-47.
- Radev, V.1999. Influence of the yeast culture (Yea-Sacc 1026) on the rumen metabolism in sheep. *Bulgar. J. Agric. Sci.* 5: 663-668.
- Radzikowski, D. 2017. Effect of probiotics, prebiotics and synbiotics on the productivity and health of dairy cows and calves. *WSN*.78:193-198.
- Rook, G.A. y L.R. Brunet. 2005. Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut* 54: 317-320.
- Saad N., C. Delattre, M. Urdaci, J.M. Schmitter y P. Bressollier. 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT—food science and technology*.Vol 50: 1-16.
- SAS. 2004. User's guide: statistics, version 9. SAS Inst. Cary, NC.USA.
- Timmerman, H.M., L. Mulder, H. Everts, D.C. van Espen, E. Van der Wal, G. Klaassen, S.M. Rouwers, R. Hartemink, F.M. Rombouts y A.C. Beynen. 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *J. Dairy Sci.* 88:2154-2165.
- Tripathi, M.K. y S.A. Karim. 2011. Effect of yeast cultures supplementation on live weight change, rumen fermentation, ciliate protozoa population, microbial hydrolytic enzymes status and slaughtering performance of growing lamb. *Livest Sci* 135: 17-25.
- Tripathi, M.K., S.A. Karim, O.H. Chaturvedi y D.L.Verma. 2008. Effect of different liquid cultures of live yeast strains on performance, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in lambs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)* 92: 631-639.
- Uyeno, Y., S. Shigemori y T. Shimosato. 2015. Effects of prebiotics/prebiotics in cattle health and productivity: Minireview. *Microbes Environ.*30:126-132.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson y B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 24:834–843.
- Williams, P.E.V. y C.J. Newbold. 1990. Rumen probiotics: The effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In: *Recent*

Advances in Animal Nutrition (Haresign, W., and Cole, D.J.A. Eds). Butterworths, London, pp. 211-227.

Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. J. Dairy Sci. 43:1452-1459.

Yoon, I.K. y M.D. Stern. 1996. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. J. Dairy Sci. 79: 411-417.

Zinn, R.A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. J. Anim. Sci. 66:213-227.

Zinn, R.A. 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. J. Anim. Sci. 68:776-781

EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE eCG Y GNRH-ANÁLOGO EN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE CERDAS DESTETADAS BAJO CONDICIONES DE ALTA CARGA CALÓRICA

Anabel Paixao Guzman ^{1*}, Javier Alonso Romo Rubio^{2*}, Jesús José Portillo Loera^{3*}, Christian de Jesús Urías Castro^{4*}, Juan Manuel Romo Valdez^{4*}, Héctor Raúl Guemez Gaxiola^{4*}

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias; inscrito en la FMVZ-UAS; ²Director de Tesis, ³Co-director de Tesis, ⁴Asesor

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UAS [+apaixaoguzman@gmail.com](mailto:apaixaoguzman@gmail.com)

INTRODUCCIÓN

Las cerdas destetadas bajan su rendimiento reproductivo bajo condiciones de alta carga calórica ambiental, lo que se ha denominado como “infertilidad estacional”, misma que se manifiesta durante los meses de verano-otoño (de Rensis *et al.*, 2017). Las manifestaciones de infertilidad estacional incluyen pubertad tardía (Peltoniemi *et al.*, 1999), intervalo destete-estro prolongado o irregular (Sterning *et al.*, 1990), tasas reducidas de partos (Tast *et al.*, 2002), anestos y tamaños reducidos de camada (Wegner *et al.*, 2016). En general, la infertilidad estacional se expresa con mayor frecuencia en cerdas primerizas (nulíparas) y cerdas primíparas que en cerdas múltiparas (Tummaruk *et al.*, 2007; Bloemhof *et al.*, 2013). Es sabido que la baja ingesta de nutrientes durante la lactancia está relacionada con la reducción de la fertilidad de las cerdas (Kirkwood *et al.*, 1987; Kirkwood *et al.*, 1990) y se asocia con una disminución preovulatoria de LH en las cerdas (Baidoo *et al.*, 1992) y una menor secreción basal de LH en cerdas primerizas gestantes (Peltoniemi *et al.*, 1997) y cerdas adultas (Kirkwood *et al.*, 1990). Se ha sugerido que una disminución en la secreción de LH tiene un efecto adverso sobre la calidad de la luteinización de los folículos ovulados (Aherne y Kirkwood, 1985), lo que sugiere una menor producción de progesterona y sus posibles consecuencias en el mantenimiento de la gestación. Se sabe que el proceso de desarrollo folicular y la tasa de ovulación dependen de las gonadotropinas (Knox, 2005; Soede *et al.*, 2011); la hormona luteinizante (LH) es responsable de la maduración y selección de los folículos que eventualmente ovularán, y la hormona folículo estimulante (FSH) desempeña una función de apoyo en la maduración del folículo (Guthrie y Knudsen, 1984; Guthrie y Bolt, 1990; Guthrie *et al.*, 1990). Estas hormonas se usan comúnmente en forma combinada para inducir el crecimiento folicular y la ovulación en protocolos para la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en cerdas destetadas (Brüssow *et al.*, 1996). La gonadotropina corionica equina (eCG) es la hormona más utilizada para sincronizar el desarrollo folicular después del destete (Kirkwood y Kauffold, 2015); al respecto, se ha observado que un menor porcentaje de cerdas tratadas con 1000 UI de eCG, desarrollan quistes ováricos (Schlegel *et al.*, 1978); además, cerdas primarias y múltiparas que recibieron la aplicación i.m. de 1000 UI de eCG 24 h después del destete tuvieron mayor tasa de preñez y tamaño de camada que las que recibieron la combinación de 400 UI de eCG/200 UI de hCG (Barbe *et al.*, 1997). Los análogos de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH; Peforelina, Triptorelina, Buserelina, Gonadorelina y Goserelina) se han utilizado para sincronizar la ovulación en cerdas destetadas (de Jong *et al.*, 2013;

Kirkwood y Kauffold, 2015). Se ha observado que primerizas inyectadas con 50 µg de D-Phe6-LHRH (Gonavet®) 78-80 horas después de la aplicación de 1000 IU de eCG e inseminadas artificialmente a las 24 y 40 horas después de la aplicación de GnRH, tuvieron mayores resultados de fertilidad en comparación con el uso de hCG para inducir la ovulación (Brüssow *et al.*, 1996). El objetivo del presente estudio es medir la respuesta reproductiva de la cerda destetada, bajo condiciones de alta carga calórica ambiental, a la aplicación de eCG 24 h posdestete y GnRH-análogo al inicio del celo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las cerdas destetadas bajan su rendimiento reproductivo bajo condiciones de alta carga calórica ambiental, lo que se ha denominado como “infertilidad estacional”, misma que se manifiesta durante los meses de verano-otoño, fundamentalmente en zonas con climas tropicales y más específicamente en cerdas jóvenes (primíparas y primerizas), situación que plantea la necesidad de generar alternativas de manejo reproductivo que mejoren la respuesta reproductiva de las cerdas bajo condiciones de alta carga calórica.

HIPÓTESIS

La administración de Gonadotropina Corionica Equina (eCG) 24 h posdestete y GnRH análogo al momento del estro mejora la respuesta reproductiva de las cerdas destetadas durante la época de verano en zonas tropicales.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta reproductiva de las cerdas destetadas durante la época de verano a la aplicación combinada de eCG y GnRH análogo.

Objetivos específicos

1. Medir el efecto de la aplicación de eCG a cerdas destetadas durante la época de verano en el intervalo destete-celo.
2. Medir el efecto de la aplicación combinada de eCG y GnRH análogo en cerdas destetadas durante la época de verano en la tasa de gestación y tasa de parto.
3. Medir el efecto de la aplicación combinada de eCG y GnRH análogo en cerdas destetadas durante la época de verano en el tamaño y peso de la camada al nacimiento.
4. Medir la influencia del espesor de grasa dorsal sobre el intervalo destete-celo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del área de estudio. El estudio se realizará en la granja porcina de ciclo completo “La Huerta”, localizada en el municipio de Culiacán, Sinaloa; en el noroeste de México, durante los meses de junio a septiembre de 2019.

Animales en estudio y prácticas de manejo. El objetivo del trabajo será determinar el efecto de la aplicación de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) a las 24 hrs posdestete y la aplicación de análogo de Hormona Liberadora de Gonadotropina (GnRH; D-Phe6-LHRH) al momento del celo, sobre el desempeño reproductivo de la cerda bajo condiciones de alta carga calórica ambiental. Se utilizarán 100 cerdas destetadas (primíparas, n = 50; múltíparas, n = 50), clínicamente sanas. Al destete se medirá el espesor de grasa dorsal. Las cerdas serán alojadas en corrales colectivos con piso de concreto ubicados en galerón abierto totalmente techado, en grupos máximos de 15 de acuerdo a su peso corporal. Todas

las cerdas serán alimentadas con una dieta de gestación a libre acceso, con acceso permanente a agua de bebida. La estimulación del estro se realizará a partir de 24 h después del destete, diariamente a las 0700 y 1800 h, con la ayuda de un semental sexualmente maduro y se registrará el intervalo destete-celo (h). Las cerdas detectadas en celo serán alojadas en jaulas individuales de gestación, ubicadas en un galerón abierto con piso de concreto y totalmente techado; serán inseminadas a las 24 y 36 h después de detectadas en celo, con la presencia de un semental sexualmente activo. Las cerdas permanecerán en las jaulas hasta los 110 días de gestación, periodo durante el cual recibirán 2 kg de alimento de una dieta de gestación. El diagnóstico de gestación se realizará a los 28 días post inseminación artificial. Cuatro días antes de la fecha probable de parto las cerdas serán trasladadas a la sala de maternidad, espacio cerrado con techos con aislamiento térmico y ventilación forzada. Al momento del parto se registrará el número total de lechones nacidos, lechones nacidos vivos y peso de la camada al nacimiento. La cerda recibirá una dieta de lactancia de acuerdo al apetito, con servidas múltiples durante el día. El periodo de lactancia será de 21 días y al destete se registrará el tamaño y peso de la camada. Se registrará el número de cerdas inseminadas y cerdas paridas, con base en lo cual se determinará la tasa de parto. Se registrará la temperatura y humedad relativa, y con base en ello se determinará el índice de temperatura y humedad (ITH) al que estuvieron expuestas las cerdas durante el periodo de estudio.

Diseño experimental. Con el objetivo de determinar el efecto de la aplicación intramuscular o intra submucosa vulvar de eCG a las 24 hr posdestete y la aplicación de análogo de GnRH (D-Phe6-LHRH) al momento del celo, sobre el desempeño reproductivo de la cerda bajo condiciones de alta carga calórica ambiental, se utilizarán 100 cerdas destetadas (genética PIC), en un diseño de bloques completos al azar, en donde el criterio de bloqueo será el número de parto (primerizas y múltiparas). Los tratamientos (T) consistirán en: T1: (Grupo testigo; n = 50; 25 primerizas y 25 múltiparas), cerdas destetadas que no recibirán tratamiento hormonal y T2: (n = 50; 25 primerizas y 25 múltiparas), cerdas que recibirán la aplicación i.m. de 1000 UI de eCG 24 hr posdestete y 50 µg i.m. de GnRH al momento de la manifestación de celo..

Mediciones. Se registrará el espesor de grasa dorsal (EGD; mm), intervalo destete-celo (IDC; h), total de lechones nacidos (TLN; número), lechones nacidos vivos (LNV; número) y peso de la camada al nacimiento (PCN; kg), tamaño (TCD; número) y peso de la camada al destete (PCD; kg), así como la tasa de gestación (TG; %) y tasa de parto (TP; %).

Análisis estadístico. A los datos de IDC, TLN, LNV y PCN, se les aplicará a un análisis de varianza (ANOVA; $P \leq 0.05$), para un diseño de bloques completos al azar. A los datos de TG y TP se les aplicará un análisis de X^2 ($P \leq 0.05$), utilizando tablas de contingencia 2 x 2. Se realizará un análisis de correlación del efecto del EGD sobre el IDC. La unidad experimental será la cerda.

El modelo matemático que se utilizará es:

$$Y_i = \mu + eCG + GnRH_j + B_k + E_{ijkl}$$

Donde:

Y_i es la variable de respuesta

μ es la media general del experimento
eCG + GnRH_j es el efecto del j-ésimo nivel de eCG y GnRH
B_k es el efecto del número de parto
E_{ijkl} es el error aleatorio

LITERATURA CITADA

- Aherne FX, Kirkwood RN. Nutrition and sow prolificacy. 1985. *J Reprod Fertil Suppl*; 33:169-183. ISSN: 04493087, <https://www.researchgate.net/publication/19250763> Nutrition and sow prolificacy
- Baidoo SK, Aherne FX, Kirkwood RN, Foxcroft GR. 1992. Effect of feed intake during lactation and after weaning on sow reproductive performance. *Canadian Journal of Animal Science*; 72(4):911-917. ISSN: 0008-3984 <https://doi.org/10.4141/cjas92-103>
- Barbe C., Wähler M., Schnurrbusch U. 1997. Influence of PMSG and PMSG/hCG-combinations on fertility of weaned sows. 2. Effect of different methods of cycle stimulation after weaning on fertility. *Arch. Tierzucht*,40(6): 567-580. ISSN: 0003-9438, <https://www.researchgate.net/publication/289153356> Influence of PMSG and PMSGhCG-combination on ferti of weaned sows II Effect if different methods of cycle stimulation after weanig on fertility
- Bloemhof S, Mathur PK, Knol EF, van der Waaij EH. 2013. Effect of daily environmental temperature on farrowing rate and total born in dam line sows. *J Anim Sci*; 91:2667-2679. ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/jas.2012-5902
- Brüssow KP, Jöchle W, Hühn U. 1996. Control of ovulation with a GnRH analog in gilts and sows. *Theriogenology*; 46:925-934. ISSN: 0093-691X, DOI: 10.1016/S0093-691X (96)00258-0
- De Jong E, Kauffold J, Engl S, Jourquin J, Maes D. Effect of a GnRH analogue (Mapeelin) on the reproductive performance of gilts and sows. 2013. *Theriogenology*; 80:870-7. ISSN: 0093-691X, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.07.012
- De Rensis Fabio, Ziecik Adam J., Kirkwood Roy N. 2017. Seasonal infertility in gilts and sows: Aetiology, clinical implications and treatments. *Theriogenology*; 96:111-117. ISSN: 0093-691X, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.04.004
- Guthrie, H. D., and D. J. Bolt. 1990. Changes in plasma follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, estrogen and progesterone during growth of ovulatory follicles in the pig. *Domest Anim Endocrinol*; 7:83-91. ISSN: 0739-7240, [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(90\)90057-7](https://doi.org/10.1016/0739-7240(90)90057-7)
- Guthrie, H. D., and J. F. Knudsen. 1984. Follicular growth and production of estrogen and progesterone after injection of gilts with human chorionic gonadotropin on day 12 of the estrous cycle. *J Anim Sci*; 59: 1295-1302. ISSN: 1525-3163, [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(93\)90018-7](https://doi.org/10.1016/0739-7240(93)90018-7).
- Guthrie, H. D., D. J. Bolt, and B. S. Cooper. 1990. Effects of gonadotropin treatment on ovarian follicle growth and granulosa cell aromatase activity in prepuberal gilts. *J Anim Sci*; 68:3719-3726. ISSN: 1525-3163, <https://doi.org/10.2527/1990.68113719x>

Kirkwood RN, Baidoo SK, Aherne FX, Sather AP. 1987. The influence of feeding level during lactation on the occurrence and endocrinology of the post weaning estrus. *Can J Anim Sci*; 67:405-415. . ISSN: 0008-3984, <https://doi.org/10.4141/cjas87-039>

Kirkwood RN, Baidoo SK, Aherne FX. 1990. The influence of feeding level during lactation and gestation on the endocrine status and reproductive performance of second parity sows. *Can J Anim Sci*; 70:1119-1126. ISSN: 0008-3984 <https://doi.org/10.4141/cjas90-135>

Kirkwood RN, Kauffold J. 2015. Advances in breeding management and use of ovulation induction for fixed-time AI. *Reprod Domest Anim*; 50:85–89. ISSN: 0936-6768, DOI: 10.1111/rda.12524

Knox, R. V. 2005. Recruitment and selection of ovarian follicles for determination of ovulation rate in the pig. *Domest Anim Endocrinol*; 29: 385-397. ISSN 0739-7240, DOI: 10.1016/j.domaniend.2005.02.025

Peltoniemi OA, Heinonen M, Leppävuori A, Love RJ. 1999. Seasonal effects on reproduction in the domestic sow in Finlandia herd record study. *Acta Vet Scand*; 40:133-144. ISSN :0044-605X, https://www.researchgate.net/publication/12696599_Seasonal_Effects_on_Reproduction_in_the_Domestic_Sow_in_Finland_-_A_Herd_Record_Study

Peltoniemi OA, Love RJ, Klupiec C, Evans G. 1997. Effect of feed restriction and season on LH and prolactin secretion, adrenal response, insulin and FFA in group housed pregnant gilts. *Anim Reprod Sci*; 49:179-190. ISSN: 0378-4320, [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00062-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00062-6)

Soede N.M., P. Langendijk, B. Kemp. 2011. Reproductive cycles in pigs. *Animal Reproduction Science* 124: 251–258. ISSN: 0378-4320, DOI: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.025

Sterning M, Rydhmer L, Eliasson L, Einarsson S, Anderson K. A. 1990. Study on primiparous sows of the ability to show standing oestrus and to ovulate after weaning. Influences of loss of body weight and back fat during lactation and of litter size, litter weight gain and season. *Acta Vet Scand*; 31:227-236. ISSN : 0044605X, https://www.researchgate.net/publication/20894589_A_study_on_primiparous_sows_of_the_ability_to_show_standing_oestrus_and_to_ovulate_after_weaning_Influences_of_loss_of_body_weight_and_backfat_during_lactation_and_of_litter_size_litter_weight_gain_and_season

Tast A, Peltoniemi OA, Virolainen JV, Love RJ. 2002. Early disruption of pregnancy as a manifestation of seasonal infertility in pigs. *Anim Reprod Sci*; 74: 75-86. ISSN: 0378-4320, [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(02\)00167-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(02)00167-7).

Tummaruk P, Tantasuparuk W, Techakumphu M, Kunavongkrit A. 2007. Age, body weight and backfat thickness at first observed oestrus in crossbred Landrace x Yorkshire gilts, seasonal variations and their influence on subsequent reproductive performance. *Anim Reprod Sci*; 99:167-181. ISSN: 0378-4320, DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.05.004

Wegner K, Lambert C, Das G, Reiner G, Gauly M. 2016. Effects of temperature and temperature-humidity index on the reproductive performance of sows during summer months under a temperate climate. *Anim Sci J*; 11: ISSN: 1740-0929, DOI: 10.1111/asj.12569

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA-GENOTÍPICA Y POTENCIAL PATOGENICO DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. EN MAÍZ (*Zea mays*)

ALAN DOURIET ANGULO ¹, CARLOS ALFONSO LOPEZ ORONA², GUADALUPE LOPEZ URQUIDEZ², MITZI DEYANIRA ESTRADA ACOSTA², FELIPE AYALA TAFOYA², TOMAS DÍAZ VALDÉS²

¹Maestria en ciencias agropecuarias, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa. E-mail: Alanboots@hotmail.com

²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa.

RESUMEN

La fusariosis del maíz es una enfermedad causada por los miembros del género *Fusarium*, a la cual se le atribuyen grandes pérdidas tanto en la calidad como en el rendimiento del grano alrededor del mundo y la cual ha sido detectada recientemente en el estado de Sinaloa. Por lo tanto, durante la temporada agrícola 2017-2018, con el objetivo de caracterizar mediante técnicas morfológicas y moleculares las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis así como evaluar el potencial patogénico de dichas especies, se llevó a cabo un muestreo de plantas de maíz con síntomas evidentes de fusariosis en 10 campos agrícolas de Culiacán y Guasave, respectivamente, recolectando alrededor de 600 muestras de maíz infectado. Se obtuvieron 36 aislamientos de *Fusarium* spp. identificadas morfológicamente, de las cuales 34 cultivos monospóricos pertenecen a *F. proliferatum* y mientras dos cultivos monospóricos se identificaron como *F. solani*. Se hipotetizaba que las diferentes especies de *Fusarium* identificadas en este estudio sean causantes de la fusariosis en el maíz, las cuáles mostrarían diferencias morfológicas y genotípicas, dentro de las mismas especies de diferentes poblaciones, así como en la expresión de su potencial patogénico.

ABSTRACT

Fusariosis of corn is a disease caused by members of the genus *Fusarium*, which is attributed to great losses in both quality and yield of grain around the world and which has been recently detected in the state of Sinaloa. Therefore, during the 2017-2018 agricultural season, with the objective of characterizing by means of morphological and molecular techniques the *Fusarium* species causing the fusariosis as well as evaluating the pathogenic potential of said species, a sampling of corn plants was carried out with evident symptoms of fusariosis in 10 agricultural fields of Culiacán and Guasave, respectively, collecting around 600 samples of infected corn. 36 isolates of *Fusarium* spp. morphologically identified, of which 34 monosporic cultures belong to *F. proliferatum* and while two monosporic cultures were identified as *F. solani*. It was hypothesized that the different *Fusarium* species identified in this study are the cause of fusariosis in maize, which would show morphological and genotypic differences, within the same species of different populations, as well as in the expression of their pathogenic potential.

INTRODUCCIÓN

En los países desarrollados, la mayor parte del maíz producido se utiliza para la alimentación animal y producción industrial de distintos alimentos para humanos (Farnham *et al.*, 2003). México es uno de los mayores productores de maíz a nivel mundial, donde se destinan alrededor de 8 millones ha para su siembra, las cuáles producen casi 22 millones t de maíz, con un valor de un poco más de 7 mil millones de pesos. Entre los Estados con mayor producción de maíz se encuentra Sinaloa, donde se producen un poco más de 6 millones t; los municipios con mayor producción de maíz en el Estado son Guasave con alrededor de 1 391 405 t; Culiacán con 1 061 174 t y Ahome con alrededor de 935 870 t, en donde casi la totalidad de sus tierras son de riego (SIAP, 2017). Esta producción y la calidad se ven amenazada por una enfermedad conocida como fusariosis. Esta enfermedad es provocada por especies patógenas del género *Fusarium*, que pueden causar marchitez en todos los estadios de la planta y consecuentemente la producción de micotoxinas en el grano lo que representa un riesgo a la salud pública al consumir maíz contaminado con estos compuestos (Figueroa-Rivera *et al.*, 2010; Aguín *et al.*, 2014). Se ha documentado que existe una variación genética y de potencial patogénico entre especies de *Fusarium*, que se desarrollan en hábitats bajo diferentes condiciones climáticas (Bai y Shaner, 1996; Miedaner *et al.*, 2000). Este hecho es corroborada por estudios realizados en México, por ejemplo, en un estudio llevado a cabo en el estado de Guanajuato se reportaron las especies *F. subglutinans*, *F. verticilloides*, *F. heterosporum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum* y *F. reticulatum*, las cuáles presentaron variación en su patogenicidad (Figueroa-Rivera *et al.*, 2010) y recientemente en un estudio realizado en la zona norte del estado de Sinaloa, se detectó la presencia de 4 especies de *Fusarium*: *F. verticilloides*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. thapsinum*, donde todas las especies presentaron niveles diferentes en la expresión de su potencial patogénico (Leyva-Madrigal *et al.*, 2015). El estudio de este hongo patógeno es de vital importancia ya que se estima que la pudrición de la mazorca por fusariosis genera una deficiencia en la calidad y el rendimiento del grano en un 30% de la producción en el estado de Sinaloa (García-Gutiérrez *et al.*, 2012). Por lo cual, el objetivo del estudio es caracterizar morfológica y genotípicamente, las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis del maíz en el estado de Sinaloa, así como evaluar la patogenicidad de dichas especies.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El maíz es un cultivo de importancia económica, cultural y alimenticia, sin embargo, la fusariosis (*Fusarium* spp.) representa un problema para su producción por los daños que ocasiona en el tallo y granos de maíz, generando así un problema de salud pública al poder consumir granos contaminados con toxinas producidas por *Fusarium* spp. Lo anterior hace necesario estudiar la patogenicidad y diversidad genética de las poblaciones de *Fusarium* spp. causantes de la fusariosis de maíz de la zona centro-norte del estado de Sinaloa.

HIPÓTESIS

Diferentes especies de *Fusarium* serán las causantes de la fusariosis en el maíz en el estado de Sinaloa, las cuáles mostrarán diferencias morfológicas y genotípicas, dentro de las

mismas especies de diferentes poblaciones, así como en la expresión de su potencial patogénico.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar mediante técnicas morfológicas y moleculares las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis en maíz en el estado de Sinaloa, así como evaluar el potencial patogénico de dichas especies.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.-Identificar mediante técnicas morfológicas y moleculares las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis del maíz en el estado de Sinaloa.
- 2.-Evaluar el potencial patogénico de las especies de *Fusarium* encontradas en maíz en el estado de Sinaloa.
- 3.-Determinar la frecuencia en la distribución de las especies de *Fusarium* encontradas en maíz en el estado de Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Marco de muestreo: La recolección de muestras se realizará en predios con cultivos de maíz en los municipios de Culiacán y Guasave del estado de Sinaloa, y se llevará a cabo un muestreo dirigido a las plantas que posean síntomas evidentes de fusariosis, tomando como muestra mazorca, tallo y raíz. Las muestras serán tomadas durante los ciclos agrícolas 2017/2018 y 2018/2019, en las temporadas Otoño-invierno y primavera-verano, y serán llevadas al laboratorio para su posterior procesamiento. Todos puntos de muestreo serán georreferenciados mediante un GPS (Garmin eTrex Legend).

Esterilización de materiales y medio de cultivo: La esterilización de los materiales y medios de cultivo se realizará en autoclave a una temperatura de 120° C durante 15 minutos (Leslie y Summerell, 2006).

Aislamiento de *Fusarium* spp. a partir de material vegetal infectado: Para el aislamiento de los hongos presentes en los tejidos infectados de maíz, se realizaron cortes transversales a los tejidos vegetales infectados y fueron desinfectados mediante lavados con alcohol al 90%, seguido de un lavado con hipoclorito de sodio al 2% y un último lavado con agua destilada estéril, después del tercer lavado, los tejidos se colocaron sobre un papel absorbente para retirar los excesos de humedad. Una vez secos, los tejidos desinfectados se colocarán en un medio de cultivo PDA. Para la preparación del medio PDA se colocan 39 g de Papa Dextrosa Agar (PDA), 750 mg de pentacloronitrobenceno (PCNB) y 300 mg de sulfato de estreptomina en un litro de agua destilada y se esteriliza en autoclave. Para el desarrollo del hongo, las placas serán colocadas en una incubadora a temperatura de 25°C durante 7 días (Wang y Jeffers, 2000).

Obtención de cultivos monospóricos: Los cultivos monospóricos se realizaron agregando una pequeña porción de micelio, obtenida a partir de los aislamientos de material vegetal

infectado en medio PDA, en tubos eppendorf 1.5 mL con 1 mL de agua estéril y se agitaron en vortex durante 1 minuto, de este producto se realizaron diluciones seriadas hasta la 10^{-6} . Se tomaron 20 μ L de la dilución 10^{-6} y se vertieron en una placa de Petri con medio de cultivo de PDA (Hansen y Smith, 1932). Una vez germinadas las esporas, se tomó solo una con un aza y se transfirió a una nueva placa de Petri con medio de cultivo PDA, en donde se desarrollará el cultivo monospórico.

Identificación morfológica: La identificación morfológica de los cultivos monospóricos de *Fusarium* spp. se logró observando bajo el microscopio las estructuras morfológicas desarrolladas en medios de cultivo CLA, en donde *Fusarium* spp. tiene un desarrollo uniforme de las microconidias, macroconidias y clamidosporas. Para realizar la identificación de las especies de *Fusarium* spp. se utilizó el manual de Leslie y Summerell (2006).

Pruebas de patogenicidad en semillas de maíz: Las semillas de maíz utilizadas en las pruebas serán desinfectadas con alcohol al 90%, un segundo lavado con hipoclorito de sodio al 3% y un tercer lavado con agua destilada estéril, para ser colocadas posteriormente en placas de Petri con medio de cultivo PDA, donde se han sembrado con anterioridad los inóculos de *Fusarium* spp. y se incubaran nuevamente durante 7 días a una temperatura de 22°C (Broders *et al.*, 2007). Para la evaluación del potencial patogénico de las cepas de *Fusarium* spp. en semillas de maíz se utilizó una escala de severidad tomando como variable la germinación y pudrición, dicha escala fue clasificada de la siguiente manera: 1= semilla germinada, plántulas sanas sin síntomas de infección; 2= semilla germinada, raramente con signos de infección; 3= semilla germinada, cubierta parcialmente con micelio, con 20 al 75% de la raíz de la plántula con lesiones; 4= semilla germinada, completamente cubierta con micelio, más del 75% de la raíz de la plántula con lesiones; 5= semilla no germinada, completamente cubierta de micelio (Hao *et al.*, 2017).

Pruebas de patogenicidad en plántulas de maíz: A partir de los resultados obtenidos en el ensayo de patogenicidad realizados en placas de Petri con granos de maíz, se seleccionarán las cepas de *Fusarium* spp. con el mayor potencial patogénico para evaluar su efecto sobre plántulas de maíz. Las semillas que se utilizaron para la prueba de patogenicidad en plántulas fueron una variedad híbrida utilizada en la región “Dekalb 4050”, las cuales se desinfectaron con un triple lavado al igual que las semillas utilizadas en las pruebas de patogenicidad de placas de Petri, las cuales una vez secas, fueron sembradas en charolas de germinación con arena y turba (50:50, V/V) a 22°C, durante 16 horas de fotoperiodo. Después de 4 días, antes de que la segunda hoja de la plántula se expandiera por completo, se llevó a cabo la inoculación de acuerdo a Simpson *et al.*, (2000), con modificaciones. Las plántulas de maíz se inocularon con 5 mL de solución conidial. El inóculo se obtuvo a partir del crecimiento de cada cepa de *Fusarium* spp. en medios de cultivo PDA durante dos semanas a 20°C y una vez alcanzado un desarrollo de micelio, se procedió a moler cada cepa de *Fusarium* spp desarrollada en las placas de Petri con medio de cultivo PDA con ayuda de un triturador, agregando 250 mL de agua destilada estéril. La concentración de la solución conidial se ajustó a 10^{-6} conidios mL⁻¹. Para el desarrollo de las plántulas en el ensayo, se utilizaron charolas de germinación con 128 cavidades, donde fueron destinadas 8

cavidades para cada cepa de *Fusarium* spp, realizando 3 repeticiones por ensayo. Se utilizarán plantas no inoculadas como controles negativos. Después de tres semanas de la inoculación, se llevara a cabo la evaluación de los síntomas visibles de la enfermedad, utilizando una escala porcentual que estima la necrosis de la plántula (0% = planta saludable; 10% = necrosis leve en el coleóptilo; 20 a 30% = síntomas necróticos en la primera hoja; 40 a 50% = necrótico síntomas en la segunda hoja; 60 a 70% = síntomas necróticos en la tercera hoja; 80 a 90% =planta severamente necrótica; 100% = planta muerta).

Análisis estadístico: El estudio comprenderá una fase descriptiva y una experimental. En la primera fase que comprenderá la identificación de especies de *Fusarium* los resultados se presentaran en cuadros de frecuencia de acuerdo a la zona del Estado muestreada y parte del maíz seleccionada, en caso necesario de homogeneidad de proporción se analizará con la prueba de Ji- Cuadrada. En la fase experimental, los resultados se analizarán para probar la normalidad por tratamiento (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de las varianzas (Prueba de Bartlett); en caso de cumplir los supuestos se aplicará análisis de la varianza para un diseño de un solo factor; donde en caso de ser necesario las medias se compararán con la prueba de Duncan. El valor de α máximo para aceptar diferencia estadística será de 0.05 (Wayne, 2002).

RESULTADOS

Muestreo; Del muestreo realizado en 20 localidades distribuidas entre los municipios de Culiacán y Guasave, Sinaloa, se logró recolectar alrededor de 630 muestras de tejidos infectados de maíz por *Fusarium* spp, de diferentes órganos de la planta como; mazorca, tallo y raíz. A partir de las cuales se obtuvieron 36 cultivos monospóricos tal y como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4.- Cantidad de cultivos monospóricos obtenidos a partir de las muestras colectadas en cultivos de maíz en los municipios de Culiacán y Guasave en el estado de Sinaloa.

Municipio	Órgano vegetal		
	Mazorca	Tallo	Raíz
Culiacán	5	12	0
Guasave	11	8	0
Total	16	20	0

Identificación morfológica; Se llevo a cabo la identificación morfológica de los **36 cultivos monospóricos** obtenidos en este estudio, en base a sus estructuras morfológicas tales como clamidosporas, microconidios y macroconidios, con la ayuda de las claves de identificación publicadas por Leslie y Sumerrell (2006). De los 36 cultivos monospóricos de *Fusarium* spp., **34 cultivos** fueron identificados como ***F. proliferatum*** de los cuales 16 cultivos de ellos fueron aislados de granos de maíz, 18 cultivos fueron aislados del tallo,

mientras de la raíz no se obtuvo ningún cultivo monospórico. En cuanto a *F. solani* se logró observar en **dos** ocasiones en cultivos monospóricos aislados a partir de tallos de maíz, donde no se obtuvieron cultivos monospóricos a partir de granos de maíz o de la raíz pertenecientes a *F. solani*.

DISCUSIÓN

En el desarrollo de nuestro trabajo se recolectaron e identificaron un conjunto de 36 cultivos monospóricos de *Fusarium* spp. en los municipios de Culiacán y Guasave del estado de Sinaloa, tomados de diferentes órganos de plantas de maíz blanco de riego: Mazorca, tallo y raíz. Tales cultivos monospóricos fueron identificados tomando en cuenta sus características morfológicas: Macroconidios, microconidios y clamidosporas, de las cuales se identificaron dos especies, *Fusarium proliferatum* (94%) y *F. solani* (6%).

F. proliferatum fue la especie identificada más abundante en nuestro estudio, la cual es reconocida por ser productora de micotoxinas como Deoxynivalenol y Fumonisina, las cuales al ser ingeridas son de alto riesgo por ser inductoras de enfermedades cancerígenas en los humanos y animales (Lenart *et al.*, 2013). En México, dicha especie ya ha sido reportada con anterioridad provocando la pudrición de las raíces en cultivos de maíz (Figueroa-Rivera *et al.*, 2010), al igual que en otros países alrededor del mundo provocando la pudrición de la mazorca (Rahjoo *et al.*, 2008; Zainuddin *et al.*, 2017) y la pudrición del tallo (Hao *et al.*, 2017). Asimismo, en nuestro estudio *F. proliferatum* fue aislada con mayor frecuencia de tallos de maíz, estos datos son refutados por otros investigadores donde *F. subglutinans* y FGSC, fueron las especies con mayor frecuencia identificadas en sus estudios a partir del aislamiento de tallos de maíz (Figueroa-Rivera *et al.*, 2010; Hao *et al.*, 2017), en cuanto a los trabajos realizados a partir del aislamiento de *Fusarium* spp. obtenidos de granos de maíz, mencionan que *F. poae*, *F. napiforme* y *F. verticillioides*, son las especies con mayor frecuencia aisladas de mazorcas (Morales-Rodríguez *et al.*, 2007; Rahjoo *et al.*, 2008; Lenart *et al.*, 2013). Por otra parte, *F. solani* fue la especie identificada menos frecuente en el estudio, con dos aislamientos en total, ambos aislamientos provenientes de tallos de maíz, curiosamente no se obtuvo ningún otro aislamiento de *F. solani* de algún otro órgano de maíz como granos o raíz, lo cual contradice los resultados obtenidos por Morales-Rodríguez *et al.*, (2007), en su estudio donde encontró de manera abundante a *F. solani* entre sus aislamientos de granos de maíz.

CONCLUSIÓN

Con base a los resultados de nuestro estudio se encontraron dos especies de *Fusarium* spp. las cuales están asociadas a la pudrición de la mazorca y del tallo en maíz en el estado de Sinaloa, las cuales son *F. proliferatum* y *F. solani*. La especie más abundante fue *F. proliferatum*, la cual fue identificada a partir de aislamientos obtenidos tanto de mazorcas como de tallos de maíz con síntomas visibles de infección. Mientras que la especie de *F. solani*, se observó en una medida mucho menor que la de *F. proliferatum*, con solo dos aislamientos identificados por su parte, ambos aislamientos provenientes de tallo de maíz.

Para concluir, el municipio de Guasave, Sinaloa tuvo una mayor cantidad de aislamientos identificados con 19 cultivos monospóricos, mientras que en el municipio de Culiacán, Sinaloa se observaron 17 cultivos monospóricos identificados, en ambos municipios se identificó la presencia de *F.proliferatum* y *F.solani*.

LITERATURA CITADA

- Acosta R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El maíz en Cuba. Cultivos Tropicales 30 (2): 00-00.
- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. San Diego, E.U.A. 948pp.
- Aguín O., Cao A., Pintos C., Santiago R., Mansilla P., Butrón A. 2014. Occurrence of *Fusarium* species in maize kernels grown in northwestern. Plant Pathol. J. 63: 946-951.
- Ascencio Á.A., López B.A., Borrego E.F., Rodríguez H.S.A., Flores O.A., Jiménez D.F., Gámez V.A. J. 2008. Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Revista mexicana de fitopatología 26 (2): 114-120.
- Bai G.H., Shaner G. 1996. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. Plant Disease 80: 975-979.
- Bashyal B., Aggarwal R., Sharma S., Gupta S., Rawat K., Singh D., Singh A., Krishnan S. G. 2016. Occurrence, identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with bakanae disease of basmati rice in India. European journal of plant pathology 144 (2): 457-466.
- Broders K.D., Lipps P.E., Paul P.A., Dorrance, A. E. 2007. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. Plant disease 91: 1155-1160.
- Brody J.R., Kern S.E. 2004. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. BioTechniques 36: 214-217.
- Borbón G.A., González G.D., Macías C.J., Pérez M.J., Cortez M.E., Ureta T.J., Astengo C.H., Valdez A.J. 2011. Recomendaciones para el cultivo del maíz durante el ciclo Otoño-invierno en el Estado de Sinaloa. <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3182/RECOMENDACIONES%20PARA%20EL%20CULTIVO%20DE%20MAIZ%20DURANTE%20EL%20CICLO%20O-I%20EN%20EL%20ESTADO%20DE%20SINALOA.pdf?sequence=1> (Consulta, enero 2018).
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Reino Unido. 237pp.
- Boutigny A.L., Ward T. J., Ballois N., Iancu G., Ios R. 2014. Diversity of the *Fusarium graminearum* species complex on French cereals. European journal of plant pathology 138 (1): 133-148.
- Cardwell K., Kling J., Maziya D.B., Bosque P.N. 2000. Interactions between *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus*, and insect infestation in four maize genotypes in lowland Africa. Phytopathology 90 (3): 276-284.

- Chamarthi S.K., Kumar K., Gunnaiah R., Kushalappa A.C., Dion Y., Choo T.M. 2014. Identification of fusarium head blight resistance related metabolites specific to doubled-haploid lines in barley. *European Journal of Plant Pathology* 138 (1): 67-78.
- Cruz O. 2013. El cultivo del maíz, Manual para el cultivo de maíz en Honduras. Secretaria de Agricultura y Ganadería de Honduras. <http://www.dicta.hn/files/2013,-Manual-cultivo-de-maiz--G.pdf> (Consulta, enero 2018).
- CONABIO. 2006. Elementos para la determinación de centros de origen y centros de diversidad genética en general y el caso específico de la liberación experimental de maíz transgénico al medio ambiente en México. *Revista de Geografía Agrícola* 38: 121-140.
- Covarelli L., Stifano S., Beccari G., Raggi L., Lattanzio V.M.T., Albertini E. 2012. Characterization of *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Italy: Fumonisin production, pathogenicity and genetic variability. *Food microbiology* 31 (1): 17-24.
- Czembor E., Stepień Ł., Waskiewicz A. 2014. *Fusarium temperatum* as a new species causing ear rot on maize in Poland. *Plant Disease* 98 (7): 1001-1001.
- Da Silva M., Tylka G., Munkvold G. 2016. Seed Treatment Effects on Maize Seedlings Coinfected with *Fusarium* spp. and *Pratylenchus penetrans*. *Plant Disease* 100 (2): 431-437.
- Deras H. 2014. Guía técnica: El cultivo de maíz. <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf> (Consulta, noviembre 2017).
- Desjardins A. E., Plattner R.D., Nelsen T.C., Leslie J.F. 1995. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* matting population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 79-86.
- Desjardins A.E. 2006. *Fusarium* mycotoxins: chemistry, genetics, and biology. APS Press. San Paul, E.U.A. 2266pp.
- Doebley J., Stec A., Wendel J., Edwards M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87 (24): 9888-9892.
- Farnham D., Benson G., Pearce R. 2003. *Corn: chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Minnesota, USA. Pp: 5-7.
- Figoli C.B., Rojo R., Gasoni L.A., Kikot G., Leguizamón M., Gamba R.R., Bosch A., Alconada T. M. 2017. Characterization of *Fusarium graminearum* isolates recovered from wheat samples from Argentina by Fourier transform infrared spectroscopy: Phenotypic diversity and detection of specific markers of aggressiveness. *International journal of food microbiology* 244: 36-42.
- Figuroa R.M.G., Rodríguez G.R., Guerrero A.B.Z., González C.M.M., Pons H.J.L., Jiménez B.J.F., Ramírez P.J.G., Andrio E.E., Mendoza E.M. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 124-134.
- Fumero M.V., Reynoso M.M., Chulze S. 2015. *Fusarium temperatum* and *Fusarium subglutinans* isolated from maize in Argentina. *International journal of food microbiology* 199: 86-92.

- Garcia G.C., Lizárraga S.G.L., Armenta B.A.D., Apodaca S. M.A. 2012. Efecto de productos biorracionales en la incidencia de hongos y concentración de aflatoxinas en maíz blanco cultivado en Sinaloa, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 12: 830-838.
- Gerlach W., Nirenberg H. 1982. The genus *Fusarium*--a pictorial atlas. Arno Brynda. Berlin, Alemania .406pp.
- Gordon W. 1952. The occurrence of *Fusarium* species in Canada: II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. *Canadian Journal of Botany* 30 (2): 209-251.
- Guerrero A.B.Z., Acosta G.J.A., Sanchez G.B.M., Ortega M.P.F., Gonzalez C.M.M. 2015. Razas patogénicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en garbanzo cultivado en Guanajuato, México. *Revista fitotecnia mexicana* 38 (2): 183-190.
- Gutiérrez C.G., Sánchez G.J. L., Bojórquez A.D.A., Sánchez M.A. A. 2012. Efecto de productos biorracionales en la incidencia de hongos y concentración de aflatoxinas en maíz blanco cultivado en Sinaloa, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (4): 830-838.
- Hao J.J., Xie S.N., Sun J., Yang G.Q., Liu J.Z., Xu F., Ru Y.Y., Song Y.L. 2007 Analysis of *Fusarium graminearum* species complex from Wheat-Maize Rotation Regions in Henan (China). *Plant Disease* 101: 720-725.
- IARC. 2002. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. World Health Organization. Lyon, Francia. 601pp.
- Kato Y. 1984. Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary biologist*, 17: 219-253.
- Kato T.A., Mapes C., Mera L., Serratos J., Bye R. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Editorial Impresora Apolo. Ciudad de Mexico, Mexico. 116pp.
- Kawakami A., Kato N., Sasaya T., Tomioka K., Inoue, H., Miyasaka A., Hirayae K. 2015. Gibberella ear rot of corn caused by *Fusarium asiaticum* in Japan. *Journal of General Plant Pathology* 81 (4): 324-327.
- Kelly L., Tan Y., Ryley M., Aitken E. 2017. *Fusarium* species associated with stalk rot and head blight of grain sorghum in Queensland and New South Wales, Australia. *Plant Pathology* 66 (9): 1413-1423.
- Langseth W., Bernhoft, A., Rundberget T., Kosiak B., Gareis M. 1999. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereals. *Mycopathologia* 144 (2): 103-113.
- Lanza F., Mayfield D., Munnkvold G. 2016. First report of *Fusarium temperatum* causing maize seedling blight and seed rot in North America. *Plant Disease* 100 (5): 1019-1019.
- Leslie J.F., Summerell B.A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual, John Wiley & Sons. Iowa, USA. 388p.
- Lesur L. 2005. Una guía paso a paso: Manual del cultivo del maíz. Trillas. Ciudad de Mexico, Mexico. 80pp.
- Leyva M.K.Y., Larralde C.C.P., Apodaca S.M.A., Quiroz F.F.R., Mexia B.P.A., Portillo V.S., Ordaz O.J., Maldonado M.I.E. 2015. *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in Northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology* 163: 486-497.

- Link H. 1809. Observaciones in Ordines plantarum naturales. Sociedad de amigos investigadores de Berlin. Berlin, Alemania. 40pp.
- Lizárraga S.G.J., Leyva M.K.Y., Sánchez P.P., Quiroz F.F.R., Maldonado M.I. E. 2015. *Bacillus cereus* sensu lato strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research* 176: 11-21.
- Logrieco A., Mule G., Moretti A., Botallico A. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 597-609.
- Marasas W.F.O., Kellerman T.S., Gelderblom W., Thiel P., Van der lught J.J. 1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Journal of veterinary research* 55:197-203.
- Marasas W.F., Riley R.T., Hendricks K.A., Stevens V.L., Sadler T.W., Gelineau V.J., Missmer S.A., Cabrera J., Torres O., Gelderblom W.C. 2004. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize. *The Journal of nutrition* 134 (4): 711-716.
- Marin S., Sanchis V., Magan N. 1995. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian journal of microbiology* 41(12): 1063-1070.
- Martínez F.E., Martínez J.P., Guillén S.D., Peña C.G., Hernández H.V. M. 2015. Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista mexicana de micología* 42: 33-43.
- Matsuoka Y., Vigouroux Y., Goodman M.M., Sanchez J., Buckler E., Doebley J. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (9): 6080-6084.
- Medina C.N., López A.R., Ascencio F., Castellanos T., Campa C.A. I., Angulo C. 2016. Biocontrol activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* against phytopathogenic fungi and its ability to inhibit mycotoxins production in maize grain (*Zea mays* L.). *Biological Control* 97: 70-79.
- Miedaner T., Reinbrecht C., Schilling A.G. 2000. Association among aggressiveness, fungal colonization, and mycotoxin production of 26 isolates of *Fusarium graminearum* in Winter rye head blight. *J.P.D.P.* 107: 124-134.
- Mishra P.K., Fox R.T.V., Culham A. 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiol. Lett.* 218: 329-332.
- Mulè G., Susca A., Stea G., Moretti A. 2004. A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticilloides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology* 110: 495-502.
- Munkvold G.P., O'mara J.K. 2002. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. *Plant Disease* 86: 143-150.
- Munkvold G.P. 2017. *Fusarium* Species and Their Associated Mycotoxins. *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols*. Humana Press. Nueva York, E.U.A. pp: 51-106.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* Species: an Illustrated Manual for Identification. Wisconsin, E.U.A. The Pennsylvania State University Press. 193pp.

- O'donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E., Ploetz R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 2044-2049.
- Paliwal R.L. 2001. *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Food and Agriculture Org. Roma, Italia. 377p.
- Raeder U., Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 1: 17-20.
- Scauflaire J., Gourgue M., Munaut F. 2011. *Fusarium temperatum* sp. nov. from maize, an emergent species closely related to *Fusarium subglutinans*. *Mycologia* 103 (3): 586-597.
- Serratos H. 2009. *El origen y la diversidad del maíz en el continente americano*. Greenpeace. Ciudad de México, México. 36pp.
- SIAP. (2015). *Producción Agrícola*. Ciudad de México, México. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119> (Consulta, enero 2018).
- SIAP. 2017. *Produccion agricola*. www.siap.gob.mx (Consulta, Julio 2018).
- Simpson D.R., Rezanoor H.N., Parry D.W., Nicholson P., 2000. Evidence for differential host preference in *Microdochium nivale* var. *Majus*, *M. nivale* var. *Nivale*. *Plant Pathology* 49, 261-268.
- Snyder W.C., Hansen H. 1945. The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *American Journal of Botany* 32 (10): 657-666.
- Taylor A., Vagany V., Jackson A.C., Harrison R.J., Rainoni A., Clarkson J.P. 2016. Identification of pathogenicity-related genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Molecular plant pathology* 17 (7): 1032-1047.
- Uribe L.A. A., Treviño G.A. F., Juárez A.H., Davila M.F., Chavez E.C., Flores J.L., Fuentes Y.M.O. 2014. Interaction between *Helicoverpa zea* damage with corncob diseases on genetically modified corn in Sinaloa, México. *Journal of Life Sciences*, 8 (4): 329-334.
- Van Der Lee T., Zhang H., Van Diepeningen A., Waalwijk C. 2015. Biogeography of *Fusarium graminearum* species complex and chemotypes: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A* 32 (4): 453-460.
- Varela C.P., Casal O.A., Padin M.C., Martínez V.F., Osés M.S., Scauflaire J., Munaut F., Castro M.B., Vázquez J.M. 2013. First report of *Fusarium temperatum* causing seedling blight and stalk rot on maize in Spain. *Plant Disease* 97 (9): 1252-1252.
- Wang B., Jeffers S. N. 2000. *Fusarium* root and crown rot: a disease of container-grown hostas. *Plant disease* 84: 980-988.
- Wayne, D. 2002. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4ta. Edición. Editorial Limusa. Mexico. Pag, 755.
- Wei Y., Hu W., Wang Q., Zeng H., Li X., Yan Y., Reiter R.J., He C., Shi H. 2017. Identification, transcriptional and functional analysis of heat-shock protein 90s in banana (*Musa acuminata* L.) highlight their novel role in melatonin-mediated plant response to *Fusarium* wilt. *Journal of pineal research* 62 (1).
- Wollenweber H.W., Reinking O.A. 1935. *Die fusarien, ihre beschreibung, schadwirkung und bekämpfung*. P. Parey. Berlin, Alemania. 355pp.

- Zainudin, N. A. I. M., Hamzah, F. A., Kusai, N. A., Zambri, N. S., Salleh, S. 2017. Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides*, causal agents of Fusarium ear rot of corn. *Turkish Journal of Biology*, 41(1), 220-230.
- Zhan R.L., Yang S.J., Liu F., Zhao Y.L., Chang J.M., He Y.B. 2012. First report of *Fusarium mangiferae* causing mango malformation in China. *Plant Disease* 96 (5): 762-762.
- Zhang H., Luo W., Pan Y., Xu J., Xu J., Chen W., Feng J. 2014. First report of *Fusarium temperatum* causing Fusarium ear rot on maize in Northern China. *Plant Disease* 98 (9): 1273-1273.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA-GENOTÍPICA Y POTENCIAL PATOGENICO DE ESPECIES DE *Fusarium* spp. EN MAÍZ (*Zea mays*)

ALAN DOURIET ANGULO ¹, CARLOS ALFONSO LOPEZ ORONA², GUADALUPE LOPEZ URQUIDEZ², MITZI DEYANIRA ESTRADA ACOSTA², FELIPE AYALA TAFOYA², TOMAS DÍAZ VALDÉS²

¹Maestria en ciencias agropecuarias, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa. E-mail: Alanboots@hotmail.com

²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa.

RESUMEN

La fusariosis del maíz es una enfermedad causada por los miembros del género *Fusarium*, a la cual se le atribuyen grandes pérdidas tanto en la calidad como en el rendimiento del grano alrededor del mundo y la cual ha sido detectada recientemente en el estado de Sinaloa. Por lo tanto, durante la temporada agrícola 2017-2018, con el objetivo de caracterizar mediante técnicas morfológicas y moleculares las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis así como evaluar el potencial patogénico de dichas especies, se llevó a cabo un muestreo de plantas de maíz con síntomas evidentes de fusariosis en 10 campos agrícolas de Culiacán y Guasave, respectivamente, recolectando alrededor de 600 muestras de maíz infectado. Se obtuvieron 36 aislamientos de *Fusarium* spp. identificadas morfológicamente, de las cuales 34 cultivos monospóricos pertenecen a *F. proliferatum* y mientras dos cultivos monospóricos se identificaron como *F. solani*. Se hipotetizaba que las diferentes especies de *Fusarium* identificadas en este estudio sean causantes de la fusariosis en el maíz, las cuáles mostrarían diferencias morfológicas y genotípicas, dentro de las mismas especies de diferentes poblaciones, así como en la expresión de su potencial patogénico.

ABSTRACT

Fusariosis of corn is a disease caused by members of the genus *Fusarium*, which is attributed to great losses in both quality and yield of grain around the world and which has been recently detected in the state of Sinaloa. Therefore, during the 2017-2018 agricultural season, with the objective of characterizing by means of morphological and molecular techniques the *Fusarium* species causing the fusariosis as well as evaluating the pathogenic potential of said species, a sampling of corn plants was carried out with evident symptoms of fusariosis in 10 agricultural fields of Culiacán and Guasave, respectively, collecting around 600 samples of infected corn. 36 isolates of *Fusarium* spp. morphologically identified, of which 34 monosporic cultures belong to *F. proliferatum* and while two monosporic cultures were identified as *F. solani*. It was hypothesized that the different *Fusarium* species identified in this study are the cause of fusariosis in maize, which would show morphological and genotypic differences, within the same species of different populations, as well as in the expression of their pathogenic potential.

INTRODUCCIÓN

En los países desarrollados, la mayor parte del maíz producido se utiliza para la alimentación animal y producción industrial de distintos alimentos para humanos (Farnham *et al.*, 2003). México es uno de los mayores productores de maíz a nivel mundial, donde se destinan alrededor de 8 millones ha para su siembra, las cuáles producen casi 22 millones t de maíz, con un valor de un poco más de 7 mil millones de pesos. Entre los Estados con mayor producción de maíz se encuentra Sinaloa, donde se producen un poco más de 6 millones t; los municipios con mayor producción de maíz en el Estado son Guasave con alrededor de 1 391 405 t; Culiacán con 1 061 174 t y Ahome con alrededor de 935 870 t, en donde casi la totalidad de sus tierras son de riego (SIAP, 2017). Esta producción y la calidad se ven amenazada por una enfermedad conocida como fusariosis. Esta enfermedad es provocada por especies patógenas del género *Fusarium*, que pueden causar marchitez en todos los estadios de la planta y consecuentemente la producción de micotoxinas en el grano lo que representa un riesgo a la salud pública al consumir maíz contaminado con estos compuestos (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010; Aguín *et al.*, 2014). Se ha documentado que existe una variación genética y de potencial patogénico entre especies de *Fusarium*, que se desarrollan en hábitats bajo diferentes condiciones climáticas (Bai y Shaner, 1996; Miedaner *et al.*, 2000). Este hecho es corroborada por estudios realizados en México, por ejemplo, en un estudio llevado a cabo en el estado de Guanajuato se reportaron las especies *F. subglutinans*, *F. verticilloides*, *F. heterosporum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum* y *F. reticulatum*, las cuáles presentaron variación en su patogenicidad (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010) y recientemente en un estudio realizado en la zona norte del estado de Sinaloa, se detectó la presencia de 4 especies de *Fusarium*: *F. verticilloides*, *F. nygamai*, *F. andiyazi* y *F. thapsinum*, donde todas las especies presentaron niveles diferentes en la expresión de su potencial patogénico (Leyva-Madrigal *et al.*, 2015). El estudio de este hongo patógeno es de vital importancia ya que se estima que la pudrición de la mazorca por fusariosis genera una deficiencia en la calidad y el rendimiento del grano en un 30% de la producción en el estado de Sinaloa (García-Gutiérrez *et al.*, 2012). Por lo cual, el objetivo del estudio es caracterizar morfológica y genotípicamente, las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis del maíz en el estado de Sinaloa, así como evaluar la patogenicidad de dichas especies.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El maíz es un cultivo de importancia económica, cultural y alimenticia, sin embargo, la fusariosis (*Fusarium* spp.) representa un problema para su producción por los daños que ocasiona en el tallo y granos de maíz, generando así un problema de salud pública al poder consumir granos contaminados con toxinas producidas por *Fusarium* spp. Lo anterior hace necesario estudiar la patogenicidad y diversidad genética de las poblaciones de *Fusarium* spp. causantes de la fusariosis de maíz de la zona centro-norte del estado de Sinaloa.

HIPÓTESIS

Diferentes especies de *Fusarium* serán las causantes de la fusariosis en el maíz en el estado de Sinaloa, las cuáles mostrarán diferencias morfológicas y genotípicas, dentro de las

mismas especies de diferentes poblaciones, así como en la expresión de su potencial patogénico.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar mediante técnicas morfológicas y moleculares las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis en maíz en el estado de Sinaloa, así como evaluar el potencial patogénico de dichas especies.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.-Identificar mediante técnicas morfológicas y moleculares las especies de *Fusarium* causantes de la fusariosis del maíz en el estado de Sinaloa.
- 2.-Evaluar el potencial patogénico de las especies de *Fusarium* encontradas en maíz en el estado de Sinaloa.
- 3.-Determinar la frecuencia en la distribución de las especies de *Fusarium* encontradas en maíz en el estado de Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Marco de muestreo: La recolección de muestras se realizará en predios con cultivos de maíz en los municipios de Culiacán y Guasave del estado de Sinaloa, y se llevará a cabo un muestreo dirigido a las plantas que posean síntomas evidentes de fusariosis, tomando como muestra mazorca, tallo y raíz. Las muestras serán tomadas durante los ciclos agrícolas 2017/2018 y 2018/2019, en las temporadas Otoño-invierno y primavera-verano, y serán llevadas al laboratorio para su posterior procesamiento. Todos puntos de muestreo serán georreferenciados mediante un GPS (Garmin eTrex Legend).

Esterilización de materiales y medio de cultivo: La esterilización de los materiales y medios de cultivo se realizará en autoclave a una temperatura de 120° C durante 15 minutos (Leslie y Summerell, 2006).

Aislamiento de *Fusarium* spp. a partir de material vegetal infectado: Para el aislamiento de los hongos presentes en los tejidos infectados de maíz, se realizaron cortes transversales a los tejidos vegetales infectados y fueron desinfectados mediante lavados con alcohol al 90%, seguido de un lavado con hipoclorito de sodio al 2% y un último lavado con agua destilada estéril, después del tercer lavado, los tejidos se colocaron sobre un papel absorbente para retirar los excesos de humedad. Una vez secos, los tejidos desinfectados se colocarán en un medio de cultivo PDA. Para la preparación del medio PDA se colocan 39 g de Papa Dextrosa Agar (PDA), 750 mg de pentacloronitrobenzeno (PCNB) y 300 mg de sulfato de estreptomina en un litro de agua destilada y se esteriliza en autoclave. Para el desarrollo del hongo, las placas serán colocadas en una incubadora a temperatura de 25°C durante 7 días (Wang y Jeffers, 2000).

Obtención de cultivos monospóricos: Los cultivos monospóricos se realizaron agregando una pequeña porción de micelio, obtenida a partir de los aislamientos de material vegetal infectado en medio PDA, en tubos eppendorf 1.5 mL con 1 mL de agua estéril y se agitaron en vortex durante 1 minuto, de este producto se realizaron diluciones seriadas hasta la 10^{-6} . Se tomaron 20 μ L de la dilución 10^{-6} y se vertieron en una placa de Petri con medio de cultivo de PDA (Hansen y Smith, 1932). Una vez germinadas las esporas, se tomó solo una con un aza y se transfirió a una nueva placa de Petri con medio de cultivo PDA, en donde se desarrollará el cultivo monospórico.

Identificación morfológica: La identificación morfológica de los cultivos monospóricos de *Fusarium* spp. se logró observando bajo el microscopio las estructuras morfológicas desarrolladas en medios de cultivo CLA, en donde *Fusarium* spp. tiene un desarrollo uniforme de las microconidias, macroconidias y clamidosporas. Para realizar la identificación de las especies de *Fusarium* spp. se utilizó el manual de Leslie y Summerell (2006).

Pruebas de patogenicidad en semillas de maíz: Las semillas de maíz utilizadas en las pruebas serán desinfectadas con alcohol al 90%, un segundo lavado con hipoclorito de sodio al 3% y un tercer lavado con agua destilada estéril, para ser colocadas posteriormente en placas de Petri con medio de cultivo PDA, donde se han sembrado con anterioridad los inóculos de *Fusarium* spp. y se incubaran nuevamente durante 7 días a una temperatura de 22°C (Broders *et al.*, 2007). Para la evaluación del potencial patogénico de las cepas de *Fusarium* spp. en semillas de maíz se utilizó una escala de severidad tomando como variable la germinación y pudrición, dicha escala fue clasificada de la siguiente manera: 1= semilla germinada, plántulas sanas sin síntomas de infección; 2= semilla germinada, raramente con signos de infección; 3= semilla germinada, cubierta parcialmente con micelio, con 20 al 75% de la raíz de la plántula con lesiones; 4= semilla germinada, completamente cubierta con micelio, más del 75% de la raíz de la plántula con lesiones; 5= semilla no germinada, completamente cubierta de micelio (Hao *et al.*, 2017).

Pruebas de patogenicidad en plántulas de maíz: A partir de los resultados obtenidos en el ensayo de patogenicidad realizados en placas de Petri con granos de maíz, se seleccionarán las cepas de *Fusarium* spp. con el mayor potencial patogénico para evaluar su efecto sobre plántulas de maíz. Las semillas que se utilizaron para la prueba de patogenicidad en plántulas fueron una variedad híbrida utilizada en la región "Dekalb 4050", las cuales se desinfectaron con un triple lavado al igual que las semillas utilizadas en las pruebas de patogenicidad de placas de Petri, las cuales una vez secas, fueron sembradas en charolas de germinación con arena y turba (50:50, V/V) a 22°C, durante 16 horas de fotoperiodo. Después de 4 días, antes de que la segunda hoja de la plántula se expandiera por completo, se llevó a cabo la inoculación de acuerdo a Simpson *et al.*, (2000), con modificaciones. Las plántulas de maíz se inocularon con 5 mL de solución conidial. El inóculo se obtuvo a partir del crecimiento de cada cepa de *Fusarium* spp. en medios de cultivo PDA durante dos semanas a 20°C y una vez alcanzado un desarrollo de micelio, se procedió a moler cada cepa de *Fusarium* spp desarrollada en las placas de Petri con medio de cultivo PDA con ayuda de un triturador, agregando 250 mL de agua destilada estéril. La concentración de la

solución conidial se ajustó a 10^{-6} conidios mL⁻¹. Para el desarrollo de las plántulas en el ensayo, se utilizaron charolas de germinación con 128 cavidades, donde fueron destinadas 8 cavidades para cada cepa de *Fusarium* spp, realizando 3 repeticiones por ensayo. Se utilizarán plantas no inoculadas como controles negativos. Después de tres semanas de la inoculación, se llevara a cabo la evaluación de los síntomas visibles de la enfermedad, utilizando una escala porcentual que estima la necrosis de la plántula (0% = planta saludable; 10% = necrosis leve en el coleóptilo; 20 a 30% = síntomas necróticos en la primera hoja; 40 a 50% = necrótico síntomas en la segunda hoja; 60 a 70% = síntomas necróticos en la tercera hoja; 80 a 90% =planta severamente necrótica; 100% = planta muerta).

Análisis estadístico: El estudio comprenderá una fase descriptiva y una experimental. En la primera fase que comprenderá la identificación de especies de *Fusarium* los resultados se presentaran en cuadros de frecuencia de acuerdo a la zona del Estado muestreada y parte del maíz seleccionada, en caso necesario de homogeneidad de proporción se analizará con la prueba de Ji- Cuadrada. En la fase experimental, los resultados se analizarán para probar la normalidad por tratamiento (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de las varianzas (Prueba de Bartlett); en caso de cumplir los supuestos se aplicará análisis de la varianza para un diseño de un solo factor; donde en caso de ser necesario las medias se compararán con la prueba de Duncan. El valor de α máximo para aceptar diferencia estadística será de 0.05 (Wayne, 2002).

RESULTADOS

Muestreo; Del muestreo realizado en 20 localidades distribuidas entre los municipios de Culiacán y Guasave, Sinaloa, se logró recolectar alrededor de 630 muestras de tejidos infectados de maíz por *Fusarium* spp, de diferentes órganos de la planta como; mazorca, tallo y raíz. A partir de las cuales se obtuvieron 36 cultivos monospóricos tal y como se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4.- Cantidad de cultivos monospóricos obtenidos a partir de las muestras colectadas en cultivos de maíz en los municipios de Culiacán y Guasave en el estado de Sinaloa.

Municipio	Órgano vegetal		
	Mazorca	Tallo	Raíz
Culiacán	5	12	0
Guasave	11	8	0
Total	16	20	0

Identificación morfológica; Se llevo a cabo la identificación morfológica de los **36 cultivos monospóricos** obtenidos en este estudio, en base a sus estructuras morfológicas tales como clamidosporas, microconidios y macroconidios, con la ayuda de las claves de

identificación publicadas por Leslie y Sumerrell (2006). De los 36 cultivos monospóricos de *Fusarium* spp., **34 cultivos** fueron identificados como *F. proliferatum* de los cuales 16 cultivos de ellos fueron aislados de granos de maíz, 18 cultivos fueron aislados del tallo, mientras de la raíz no se obtuvo ningún cultivo monospórico. En cuanto a *F. solani* se logró observar en **dos** ocasiones en cultivos monospóricos aislados a partir de tallos de maíz, donde no se obtuvieron cultivos monospóricos a partir de granos de maíz o de la raíz pertenecientes a *F. solani*.

DISCUSIÓN

En el desarrollo de nuestro trabajo se recolectaron e identificaron un conjunto de 36 cultivos monospóricos de *Fusarium* spp. en los municipios de Culiacán y Guasave del estado de Sinaloa, tomados de diferentes órganos de plantas de maíz blanco de riego: Mazorca, tallo y raíz. Tales cultivos monospóricos fueron identificados tomando en cuenta sus características morfológicas: Macroconidios, microconidios y clamidosporas, de las cuales se identificaron dos especies, *Fusarium proliferatum* (94%) y *F. solani* (6%).

F. proliferatum fue la especie identificada más abundante en nuestro estudio, la cual es reconocida por ser productora de micotoxinas como Deoxynivalenol y Fumonisina, las cuales al ser ingeridas son de alto riesgo por ser inductoras de enfermedades cancerígenas en los humanos y animales (Lenart *et al.*, 2013). En México, dicha especie ya ha sido reportada con anterioridad provocando la pudrición de las raíces en cultivos de maíz (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010), al igual que en otros países alrededor del mundo provocando la pudrición de la mazorca (Rahjoo *et al.*, 2008; Zainuddin *et al.*, 2017) y la pudrición del tallo (Hao *et al.*, 2017). Asimismo, en nuestro estudio *F. proliferatum* fue aislada con mayor frecuencia de tallos de maíz, estos datos son refutados por otros investigadores donde *F. subglutinans* y FGSC, fueron las especies con mayor frecuencia identificadas en sus estudios a partir del aislamiento de tallos de maíz (Figuroa-Rivera *et al.*, 2010; Hao *et al.*, 2017), en cuanto a los trabajos realizados a partir del aislamiento de *Fusarium* spp. obtenidos de granos de maíz, mencionan que *F. poae*, *F. napiforme* y *F. verticillioides*, son las especies con mayor frecuencia aisladas de mazorcas (Morales-Rodríguez *et al.*, 2007; Rahjoo *et al.*, 2008; Lenart *et al.*, 2013). Por otra parte, *F. solani* fue la especie identificada menos frecuente en el estudio, con dos aislamientos en total, ambos aislamientos provenientes de tallos de maíz, curiosamente no se obtuvo ningún otro aislamiento de *F. solani* de algún otro órgano de maíz como granos o raíz, lo cual contradice los resultados obtenidos por Morales-Rodríguez *et al.*, (2007), en su estudio donde encontró de manera abundante a *F. solani* entre sus aislamientos de granos de maíz.

CONCLUSIÓN

Con base a los resultados de nuestro estudio se encontraron dos especies de *Fusarium* spp. las cuales están asociadas a la pudrición de la mazorca y del tallo en maíz en el estado de Sinaloa, las cuales son *F. proliferatum* y *F. solani*. La especie más abundante fue *F. proliferatum*, la cual fue identificada a partir de aislamientos obtenidos tanto de mazorcas como de tallos de maíz con síntomas visibles de infección. Mientras que la especie de

F.solani, se observó en una medida mucho menor que la de *F.proliferatum*, con solo dos aislamientos identificados por su parte, ambos aislamientos provenientes de tallo de maíz. Para concluir, el municipio de Guasave, Sinaloa tuvo una mayor cantidad de aislamientos identificados con 19 cultivos monospóricos, mientras que en el municipio de Culiacán, Sinaloa se observaron 17 cultivos monospóricos identificados, en ambos municipios se identifico la presencia de *F.proliferatum* y *F.solani*.

LITERATURA CITADA

- Acosta R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El maíz en Cuba. Cultivos Tropicales 30 (2): 00-00.
- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. San Diego, E.U.A. 948pp.
- Aguín O., Cao A., Pintos C., Santiago R., Mansilla P., Butrón A. 2014. Occurrence of *Fusarium* species in maize kernels grown in northwestern. Plant Pathol. J. 63: 946-951.
- Ascencio Á.A., López B.A., Borrego E.F., Rodríguez H.S.A., Flores O.A., Jiménez D.F., Gámez V.A. J. 2008. Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. Revista mexicana de fitopatología 26 (2): 114-120.
- Bai G.H., Shaner G. 1996. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. Plant Disease 80: 975-979.
- Bashyal B., Aggarwal R., Sharma S., Gupta S., Rawat K., Singh D., Singh A., Krishnan S. G. 2016. Occurrence, identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with bakanae disease of basmati rice in India. European journal of plant pathology 144 (2): 457-466.
- Broders K.D., Lipps P.E., Paul P.A., Dorrance, A. E. 2007. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. Plant disease 91: 1155-1160.
- Brody J.R., Kern S.E. 2004. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. BioTechniques 36: 214-217.
- Borbón G.A., González G.D., Macías C.J., Pérez M.J., Cortez M.E., Ureta T.J., Astengo C.H., Valdez A.J. 2011. Recomendaciones para el cultivo del maíz durante el ciclo Otoño-invierno en el Estado de Sinaloa. <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/3182/RECOMENDACIONES%20PARA%20EL%20CULTIVO%20DE%20MAIZ%20DURANTE%20EL%20CICLO%20O-1%20EN%20EL%20ESTADO%20DE%20SINALOA.pdf?sequence=1> (Consulta, enero 2018).
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Reino Unido. 237pp.
- Boutigny A.L., Ward T. J., Ballois N., Iancu G., Ios R. 2014. Diversity of the *Fusarium graminearum* species complex on French cereals. European journal of plant pathology 138 (1): 133-148.

- Cardwell K., Kling J., Maziya D.B., Bosque P.N. 2000. Interactions between *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus*, and insect infestation in four maize genotypes in lowland Africa. *Phytopathology* 90 (3): 276-284.
- Chamarthi S.K., Kumar K., Gunnaiah R., Kushalappa A.C., Dion Y., Choo T.M. 2014. Identification of fusarium head blight resistance related metabolites specific to doubled-haploid lines in barley. *European Journal of Plant Pathology* 138 (1): 67-78.
- Cruz O. 2013. El cultivo del maíz, Manual para el cultivo de maíz en Honduras. Secretaria de Agricultura y Ganadería de Honduras. <http://www.dicta.hn/files/2013,-Manual-cultivo-de-maiz--G.pdf> (Consulta, enero 2018).
- CONABIO. 2006. Elementos para la determinación de centros de origen y centros de diversidad genética en general y el caso específico de la liberación experimental de maíz transgénico al medio ambiente en México. *Revista de Geografía Agrícola* 38: 121-140.
- Covarelli L., Stifano S., Beccari G., Raggi L., Lattanzio V.M.T., Albertini E. 2012. Characterization of *Fusarium verticillioides* strains isolated from maize in Italy: Fumonisin production, pathogenicity and genetic variability. *Food microbiology* 31 (1): 17-24.
- Czembor E., Stepien Ł., Waskiewicz A. 2014. *Fusarium temperatum* as a new species causing ear rot on maize in Poland. *Plant Disease* 98 (7): 1001-1001.
- Da Silva M., Tylka G., Munkvold G. 2016. Seed Treatment Effects on Maize Seedlings Coinfected with *Fusarium* spp. and *Pratylenchus penetrans*. *Plant Disease* 100 (2): 431-437.
- Deras H. 2014. Guía técnica: El cultivo de maíz. <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf> (Consulta, noviembre 2017).
- Desjardins A. E., Plattner R.D., Nelsen T.C., Leslie J.F. 1995. Genetic analysis of fumonisin production and virulence of *Gibberella fujikuroi* matting population A (*Fusarium moniliforme*) on maize (*Zea mays*) seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 79-86.
- Desjardins A.E. 2006. *Fusarium* mycotoxins: chemistry, genetics, and biology. APS Press. San Paul, E.U.A. 2266pp.
- Doebley J., Stec A., Wendel J., Edwardrs M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87 (24): 9888-9892.
- Farnham D., Benson G., Pearce R. 2003. Corn: chemistry and technology. American Association of Cereal Chemist. St. Paul, Minnesota, USA. Pp: 5-7.
- Figoli C.B., Rojo R., Gasoni L.A., Kikot G., Leguizamón M., Gamba R.R., Bosch A., Alconada T. M. 2017. Characterization of *Fusarium graminearum* isolates recovered from wheat samples from Argentina by Fourier transform infrared spectroscopy: Phenotypic diversity and detection of specific markers of aggressiveness. *International journal of food microbiology* 244: 36-42.
- Figueroa R.M.G., Rodríguez G.R., Guerrero A.B.Z., González C.M.M., Pons H.J.L., Jiménez B.J.F., Ramírez P.J.G., Andrio E.E., Mendoza E.M. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 124-134.

- Fumero M.V., Reynoso M.M., Chulze S. 2015. *Fusarium temperatum* and *Fusarium subglutinans* isolated from maize in Argentina. *International journal of food microbiology* 199: 86-92.
- García G.C., Lizárraga S.G.L., Armenta B.A.D., Apodaca S. M.A. 2012. Efecto de productos biorracionales en la incidencia de hongos y concentración de aflatoxinas en maíz blanco cultivado en Sinaloa, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 12: 830-838.
- Gerlach W., Nirenberg H. 1982. *The genus Fusarium--a pictorial atlas*. Arno Brynda. Berlin, Alemania .406pp.
- Gordon W. 1952. The occurrence of *Fusarium* species in Canada: II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seed. *Canadian Journal of Botany* 30 (2): 209-251.
- Guerrero A.B.Z., Acosta G.J.A., Sánchez G.B.M., Ortega M.P.F., González C.M.M. 2015. Razas patogénicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en garbanzo cultivado en Guanajuato, México. *Revista fitotecnia mexicana* 38 (2): 183-190.
- Gutiérrez C.G., Sánchez G.J. L., Bojórquez A.D.A., Sánchez M.A. A. 2012. Efecto de productos biorracionales en la incidencia de hongos y concentración de aflatoxinas en maíz blanco cultivado en Sinaloa, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (4): 830-838.
- Hao J.J., Xie S.N., Sun J., Yang G.Q., Liu J.Z., Xu F., Ru Y.Y., Song Y.L. 2007 Analysis of *Fusarium graminearum* species complex from Wheat-Maize Rotation Regions in Henan (China). *Plant Disease* 101: 720-725.
- IARC. 2002. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. World Health Organization. Lyon, Francia. 601pp.
- Kato Y. 1984. Chromosome morphology and the origin of maize and its races. *Evolutionary biologist*, 17: 219-253.
- Kato T.A., Mapes C., Mera L., Serratos J., Bye R. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Editorial Impresora Apolo. Ciudad de Mexico, Mexico. 116pp.
- Kawakami A., Kato N., Sasaya T., Tomioka K., Inoue, H., Miyasaka A., Hirayae K. 2015. Gibberella ear rot of corn caused by *Fusarium asiaticum* in Japan. *Journal of General Plant Pathology* 81 (4): 324-327.
- Kelly L., Tan Y., Ryley M., Aitken E. 2017. *Fusarium* species associated with stalk rot and head blight of grain sorghum in Queensland and New South Wales, Australia. *Plant Pathology* 66 (9): 1413-1423.
- Langseth W., Bernhoft, A., Rundberget T., Kosiak B., Gareis M. 1999. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains isolated from Norwegian cereals. *Mycopathologia* 144 (2): 103-113.
- Lanza F., Mayfield D., Munnkvold G. 2016. First report of *Fusarium temperatum* causing maize seedling blight and seed rot in North America. *Plant Disease* 100 (5): 1019-1019.
- Leslie J.F., Summerell B.A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*, John Wiley & Sons. Iowa, USA. 388p.
- Lesur L. 2005. Una guía paso a paso: Manual del cultivo del maíz. Trillas. Ciudad de Mexico, Mexico. 80pp.

- Leyva M.K.Y., Larralde C.C.P., Apodaca S.M.A., Quiroz F.F.R., Mexia B.P.A., Portillo V.S., Ordaz O.J., Maldonado M.I.E. 2015. *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in Northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology* 163: 486-497.
- Link H. 1809. *Observationes in Ordines plantarum naturales*. Sociedad de amigos investigadores de Berlin. Berlin, Alemania. 40pp.
- Lizárraga S.G.J., Leyva M.K.Y., Sánchez P.P., Quiroz F.F.R., Maldonado M.I. E. 2015. *Bacillus cereus* sensu lato strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. *Field Crops Research* 176: 11-21.
- Logrieco A., Mule G., Moretti A., Botallico A. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 597-609.
- Marasas W.F.O., Kellerman T.S., Gelderblom W., Thiel P., Van der lugt J.J. 1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *Journal of veterinary research* 55:197-203.
- Marasas W.F., Riley R.T., Hendricks K.A., Stevens V.L., Sadler T.W., Gelineau V.J., Missmer S.A., Cabrera J., Torres O., Gelderblom W.C. 2004. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize. *The Journal of nutrition* 134 (4): 711-716.
- Marin S., Sanchis V., Magan N. 1995. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize. *Canadian journal of microbiology* 41(12): 1063-1070.
- Martínez F.E., Martínez J.P., Guillén S.D., Peña C.G., Hernández H.V. M. 2015. Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista mexicana de micología* 42: 33-43.
- Matsuoka Y., Vigouroux Y., Goodman M.M., Sanchez J., Buckler E., Doebley J. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99 (9): 6080-6084.
- Medina C.N., López A.R., Ascencio F., Castellanos T., Campa C.A. I., Angulo C. 2016. Biocontrol activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* against phytopathogenic fungi and its ability to inhibit mycotoxins production in maize grain (*Zea mays* L.). *Biological Control* 97: 70-79.
- Miedaner T., Reinbrecht C., Schilling A.G. 2000. Association among aggressiveness, fungal colonization, and mycotoxin production of 26 isolates of *Fusarium graminearum* in Winter rye head blight. *J.P.D.P.* 107: 124-134.
- Mishra P.K., Fox R.T.V., Culham A. 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiol. Lett.* 218: 329-332.
- Mulè G., Susca A., Stea G., Moretti A. 2004. A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticilloides*, *F. proliferatum* and *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology* 110: 495-502.
- Munkvold G.P., O'mara J.K. 2002. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. *Plant Disease* 86: 143-150.

- Munkvold G.P. 2017. *Fusarium* Species and Their Associated Mycotoxins. Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols. Humana Press. Nueva York, E.U.A. pp: 51-106.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* Species: an Illustrated Manual for Identification. Wisconsin, E.U.A. The Pennsylvania State University Press. 193pp.
- O'donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E., Ploetz R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 2044-2049.
- Paliwal R.L. 2001. *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Food and Agriculture Org. Roma, Italia. 377p.
- Raeder U., Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 1: 17-20.
- Scauflaire J., Gourgue M., Munaut F. 2011. *Fusarium temperatum* sp. nov. from maize, an emergent species closely related to *Fusarium subglutinans*. *Mycologia* 103 (3): 586-597.
- Serratos H. 2009. *El origen y la diversidad del maíz en el continente americano*. Greenpeace. Ciudad de México, México. 36pp.
- SIAP. (2015). *Producción Agrícola*. Ciudad de México, México. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119> (Consulta, enero 2018).
- SIAP. 2017. *Producción agrícola*. www.siap.gob.mx (Consulta, Julio 2018).
- Simpson D.R., Rezanoor H.N., Parry D.W., Nicholson P., 2000. Evidence for differential host preference in *Microdochium nivale* var. *Majus*, *M. nivale* var. *Nivale*. *Plant Pathology* 49, 261-268.
- Snyder W.C., Hansen H. 1945. The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *American Journal of Botany* 32 (10): 657-666.
- Taylor A., Vagany V., Jackson A.C., Harrison R.J., Rainoni A., Clarkson J.P. 2016. Identification of pathogenicity-related genes in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Molecular plant pathology* 17 (7): 1032-1047.
- Uribe L.A. A., Treviño G.A. F., Juárez A.H., Davila M.F., Chavez E.C., Flores J.L., Fuentes Y.M.O. 2014. Interaction between *Helicoverpa zea* damage with corn cob diseases on genetically modified corn in Sinaloa, México. *Journal of Life Sciences*, 8 (4): 329-334.
- Van Der Lee T., Zhang H., Van Diepeningen A., Waalwijk C. 2015. Biogeography of *Fusarium graminearum* species complex and chemotypes: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A* 32 (4): 453-460.
- Varela C.P., Casal O.A., Padin M.C., Martínez V.F., Oses M.S., Scauflaire J., Munaut F., Castro M.B., Vázquez J.M. 2013. First report of *Fusarium temperatum* causing seedling blight and stalk rot on maize in Spain. *Plant Disease* 97 (9): 1252-1252.
- Wang B., Jeffers S. N. 2000. *Fusarium* root and crown rot: a disease of container-grown hostas. *Plant disease* 84: 980-988.
- Wayne, D. 2002. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. 4ta. Edición. Editorial Limusa. Mexico. Pag, 755.
- Wei Y., Hu W., Wang Q., Zeng H., Li X., Yan Y., Reiter R.J., He C., Shi H. 2017. Identification, transcriptional and functional analysis of heat-shock protein 90s in

- banana (*Musa acuminata* L.) highlight their novel role in melatonin-mediated plant response to *Fusarium* wilt. *Journal of pineal research* 62 (1).
- Wollenweber H.W., Reinking O.A. 1935. Die fusarien, ihre beschreibung, schadwirkung und bekämpfung. P. Parey. Berlin, Alemania. 355pp.
- Zainudin, N. A. I. M., Hamzah, F. A., Kusai, N. A., Zambri, N. S., Salleh, S. 2017. Characterization and pathogenicity of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides*, causal agents of *Fusarium* ear rot of corn. *Turkish Journal of Biology*, 41(1), 220-230.
- Zhan R.L., Yang S.J., Liu F., Zhao Y.L., Chang J.M., He Y.B. 2012. First report of *Fusarium mangiferae* causing mango malformation in China. *Plant Disease* 96 (5): 762-762.
- Zhang H., Luo W., Pan Y., Xu J., Xu J., Chen W., Feng J. 2014. First report of *Fusarium temperatum* causing *Fusarium* ear rot on maize in Northern China. *Plant Disease* 98 (9): 1273-1273.

VARIABLES QUE DETERMINAN LA PRODUCCIÓN DE TOXINAS PARALIZANTES EN *Alexandrium ostenfeldii* Y SUS MECANISMOS DE SÍNTESIS

Sonia Jeanette Delgado Del Villar ^{1*}, Laura Rebeca Jiménez Gutierrez¹, Rosalba Alonso Rodríguez²

¹ Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa, Región Sur.*delgadodelvillars@gmail.com

² Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán. Apartado Postal 811. Mazatlán, Sinaloa, México. C.P.82040

RESUMEN

Existe un aumento en la frecuencia e intensidad de los Florecimientos Algales Nocivos (FANs) y la presencia de especies tóxicas en todo el planeta, las cuales afectan los ecosistemas marinos y por ende la salud humana, por lo que es necesario entenderlos para plantear algún plan de manejo. Dentro de las especies que producen éstos FANs destacan las pertenecientes al género *Alexandrium*. Recientemente se ha identificado la presencia de *A. ostenfeldii* en las costas del Pacífico Mexicano y Golfo de California. Esta especie tiene la capacidad de producir uno o varios tipos de toxinas (PSP, GYMs y SPXs) según su ubicación geográfica; siendo la más nociva las toxinas paralizantes (PSP). Por lo tanto, es indispensable conocer el potencial tóxico de la cepa regional. En este trabajo de investigación se evaluará la producción de ficotoxinas y los mecanismos de síntesis de tres cepas de *A. ostenfeldii* aisladas de diferentes ubicaciones geográficas (México, Chile y Perú). También se evaluará la relación entre la producción de PSP con condiciones ambientales (Salinidad y Temperatura) así como también se determinarán los patrones de la expresión del gen *sxtA* asociado a la producción de PSP.

Palabras clave: FANs, Dinoflagelado, Ficotoxinas, PSP, *sxtA*

INTRODUCCIÓN

El fitoplancton es el conjunto de microorganismos autótrofos del plancton que flotan en las aguas saladas o dulces; constituyen el primer eslabón de la cadena trófica y desempeñan un papel vital en la estabilidad de los ecosistemas acuáticos. Aunque representan menos del 1% de la biomasa fotosintética de la tierra, estos organismos son responsables de más del 45% de la producción primaria y el 80% del oxígeno del planeta (Falkowski y Raven, 1997; Field *et al.*, 1998; López-Magaña *et al.*, 2016).

A pesar de estos beneficios, el crecimiento excesivo del fitoplancton puede producir un daño al ecosistema acuático debido al aumento de biomasa, elevado consumo de oxígeno, exceso de materia orgánica en descomposición, producción de toxinas y/o sustancias reactivas de oxígeno (ROS; por sus siglas en inglés *Reactive Oxygen Species*). Estos fenómenos son llamados florecimientos algales nocivos (FANs), los cuales son una amenaza global para la vida marina y la salud pública. Actualmente estos fenómenos se han reportado con mayor frecuencia y duración alrededor de todo el mundo (Farabegoli, 2018; Meave y Zamudio, 2018; Cortés-Altamirano *et al.*, 2018). El fitoplancton está constituido por Diatomeas, Cianofitas, Clorofitas y Dinoflagelados. Éstos últimos son los responsables de los mayores FANs nocivos registrados hasta el momento (Ajani *et al.*, 2007). Los dinoflagelados del género *Alexandrium* incluyen el mayor número de especies productoras de FANs nocivos (Ajani *et al.*, 2017; Fraga, 2019).

En la base de datos HAEDAT se ha registrado que el 49% de los FANs causan daño debido a las ficotoxinas (Sheweibold *et al.* 2017); las cuales son metabolitos secundarios producidos por microalgas y se clasifican de acuerdo con el tipo de trastorno que producen y se distinguen por su nombre en inglés: intoxicación paralizante por consumo de mariscos (PSP), intoxicación diarreica por consumo de mariscos (DSP), intoxicación amnésica por consumo mariscos (ASP), intoxicación neurotóxica por consumo de mariscos (NSP), intoxicación azaspiracida por consumo de mariscos (AZP) y la intoxicación ciguatera por consumo de pescado (CFP; FAO, 2005). Además de que existen otras ficotoxinas que actúan inhibiendo los receptores del Sistema Nervioso Central y Periférico, sin embargo no se han registrado casos de intoxicación en humanos, como es el caso de las Iminas Cíclicas (ICs), donde se incluyen espirólidos (SPXs), gymnodiminas (GYMs), pinnatoxinas (PnTXs), pteriatoxinas (PtTXs) y proroentrólidos (PcTXs). Éstas también son conocidas como ficotoxinas emergentes o toxinas de acción rápida FAT “Fast acting toxins” (Richard *et al.*, 2001; Cembella y Krock, 2008). Tilmann *et al.* (2007) sugiere que la producción de toxinas tiene como finalidad reducir la competencia con otras especies (alelopatía) o la defensa contra la depredación.

De todos los tipos de ficotoxinas las PSP tienen gran importancia en la salud humana, ya que en México se han reportado 505 casos durante 34 años (Núñez-Vázquez *et al.* 2019). Diversos autores han reportado que las variaciones en las condiciones climáticas pueden favorecer la producción de toxinas en las diferentes especies del género *Alexandrium* como son: la salinidad y temperatura (Suikkanen *et al.* 2013; Salgado *et al.* 2015). Dado que *A. ostenfeldi* puede producir no solo PSP, sino que además es capaz de sintetizar GYMs y SPXs, es necesario conocer el efecto de diversas condiciones ambientales sobre los niveles de toxinas y sus mecanismos de síntesis en diversas cepas de *A. ostenfeldi* provenientes de diversas regiones geográficas (Salgado *et al.* 2015).

La molécula base de las PSP es la saxitoxina (STX) actualmente se han identificado 57 derivados de STX (Wiese *et al.*, 2010). No obstante, los mecanismos de síntesis de estos compuestos y las enzimas involucradas se han estudiado en muy pocas especies (Perini *et al.*, 2014; Mendoza *et al.*, 2018). Debido a la compleja estructura de la saxitoxina no se conoce su ruta metabólica, esto impide su uso como producto farmacéutico, se cree que el gen inicial de su biosíntesis es el gen *SxtA* (Chun *et al.* 2018).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe un aumento en la frecuencia e intensidad de los FANs y la presencia de especies tóxicas en todo el planeta, las cuales afectan los ecosistemas marinos y por ende la salud humana, por lo que es necesario entenderlos para plantear algún plan de manejo. Recientemente se ha identificado la presencia de *A. ostenfeldii* en las costas del Pacífico Mexicano y Golfo de California. Por lo que su capacidad de producir diferentes tipos de toxinas, la convierten en una posible amenaza a la salud pública, por lo tanto es indispensable conocer el potencial tóxico de la cepa regional.

HIPÓTESIS

H1. Las cepas de *A. ostenfeldii* aisladas de México, Perú y Chile producirán PSP, GYMs y SPXs.

H2. La producción de PSP está relacionada con el incremento de temperatura y menor salinidad.

H3. Los patrones de expresión del gen *sxtA* son cepa-específicos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la producción de ficotoxinas y los mecanismos de síntesis de tres cepas de *A. ostenfeldii* aisladas de diferentes ubicaciones geográficas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la presencia de *A. ostenfeldii* en las costas del Pacífico Mexicano utilizando técnicas moleculares.
- Determinar el perfil tóxico de TPs, GYMs y SPXs de cada una de las cepas utilizando métodos analíticos HPLC-FL y UPLC-MS/MS.
- Evaluar la producción de toxinas utilizando diferentes condiciones de crecimiento.
- Determinar las enzimas que produce toxinas paralizantes en *A. ostenfeldii* y sus patrones de expresión contra las diferentes variables seleccionadas (salinidad, temperatura y medio de cultivo).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajará con tres cepas de *A. ostenfeldii* aisladas de diferentes ubicaciones geográficas (México, Perú, Chile). Se realizará la identificación morfométrica y posteriormente la identificación molecular, para lo cual se realizará la extracción de ADN. Se utilizarán los cebadores universales DinFi y DinRi para la amplificación de 28S rDNA (LSU) siguiendo las especificaciones de Logares *et al.* (2007). Los amplicones obtenidos serán purificados de acuerdo con Onda *et al.* (2013). La referencia de la secuencia genética será descargada del GenBank. Las cepas se mantendrán en condiciones ambientales de origen (salinidad, temperatura y medio de cultivo) y posteriormente cada cepa se expondrá a las condiciones de crecimiento de las otras dos cepas.

Tabla 1. Condiciones ambientales de experimentos para cinética de crecimiento y producción de toxinas.

Condiciones de crecimiento	Cepas de <i>A. ostenfeldii</i> aisladas en diferentes áreas geográficas		
	A (Perú)	B (Chile)	C (México)
cA (Perú)	cAA	cAB	cAC
cB (Chile)	cBA	cBB	cBC
cC (México)	cCA	cCB	cCC

Las cepas serán aclimatadas durante un mes en sus condiciones de origen, después se escalarán utilizando las condiciones ambientales específicas para cada tratamiento en un volumen total de 500 mL. Cada tratamiento contará con cinco réplicas. Una vez aclimatadas, el experimento tendrá una duración de 30 días y los muestreos serán cada 5 días. A

continuación se determinarán toxinas paralizantes en las tres cepas utilizando un Kit ELISA para STX, siguiendo el procedimiento según fabricante ABRAXIS.

Posteriormente las muestras positivas se analizará por Cromatografía Líquida de alta resolución con detección de fluorescencia (HPLC-FL) con el método Lawrence *et al.* (2005) y AOAC (2005). La separación cromatográfica será realizada utilizando una columna fase reversa Phenomenex, Gemini 5 μm C18 110A (150 x 4.6 mm), horno de columna a 35°C y un guarda columna Phenomenex Gemini C18 (4 x 3 mm ID) PRD-119058 10/PK. Un detector de fluorescencia Varian Pro Star 363 será usado para detectar la oxidación de los productos de todas las PSP, la longitud de onda de excitación de fluorescencia será a 340 nm y 395 nm de emisión. La fase móvil (A): 0.1 M Formiato de amonio, (B): 0.1 M formiato de amonio con 5% de acetonitrilo.

Después se analizarán las PSP, GYMs y SPXs utilizando Cromatografía Líquida de Ultra Resolución con Interacción Hidrofílica acoplado a un espectrómetro de masas (HILIC-MS/MS; por sus siglas en inglés Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography). Se utilizará ácido acético al 1% para la extracción de PSP según Boundy *et al.* (2015). Un cromatógrafo de ultra resolución (UPLC) será acoplado a un espectrómetro de masas para el análisis de toxinas paralizantes utilizando la metodología de Turner *et al.* (2015). Se utilizará una columna BEH Amina de 1.7 μm , 2.1 x 150 mm con guarda columna BEH Amida. El volumen de inyección será de 2 μl . La fase móvil 1 consistirá de agua + 0.015% de ácido fórmico + 0.06% de amonio al 25%. La fase móvil 2 estará compuesta de 70% acetonitrilo + 0.01% de ácido fórmico con gradiente detallado en Boundy *et al.* (2015).

Por otra parte, la identificación de las secuencias que codifican para las enzimas que producen las toxinas paralizantes de *A. ostentfeldii* se llevará a cabo por medio de análisis bioinformático en bases de datos del GenBank. Se llevará a cabo una búsqueda de los transcritos de las enzimas previamente reportadas para especies de *Alexandrium*, se realizará unos alineamientos de las secuencias de varias especies para detectar las regiones más conservadas, sobre las cuales se diseñarán cebadores específicos para cada secuencia. Al mismo tiempo se llevará a cabo la extracción de ARN total del tratamiento con mayor y menor concentración de toxina paralizante de cada una cepas. Las células serán filtradas para obtener una muestra de 100 mg para la extracción de ARN por medio del reactivo trizol de acuerdo a las condiciones del fabricante INVITROGEN. La integridad de los ARN será revisada en gel de agarosa al 1.5 % en condiciones nativas. Los ARN íntegros serán limpiados de genómico por medio de DNasa de Roche de acuerdo a las condiciones del fabricante.

Posteriormente se realizará la síntesis de ADN complementario por medio del kit First Strand Invitrogen de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Una vez corroborada la síntesis, se realizará la amplificación de las secuencias de interés por medio de los cebadores previamente diseñados por medio de PCR de punto final. Todos los productos obtenidos serán purificados mandados a secuenciar. Finalmente, se evaluará la expresión relativa de las secuencias con respecto a un gen constitutivo de forma semi cuantitativa por medio del programa ImageLab.

LITERATURA CITADA

- Ajani, P., Harwood, D., Murray, S. (2017). Recent trends in marine phycotoxins from Australian Coastal Waters. *Marine Drugs* 15, 33. ISSN: 1660-3397; Doi: 10.3390/md15020033
- AOAC. (2005). Official method 2005.06, Quantitative Determination of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins, in Shellfish using Prechromatographic Oxidation and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. En: Official methods of analysis of AOAC international. (Horwitz, W. ed.).18th ed. Gaithersburg, USA. 13 p.
- Boundy M. J., Selwood A., Harwood D., McNabb P., Turner A. (2015) Development of a sensitive and selective liquid chromatography-mass spectrometry method for high throughput analysis of paralytic shellfish toxins using graphitized carbon solid phase extraction. *Journal of Chromatography A* 1387:1-12. ISSN: 0021-9673. Doi: 10.1016/j.chroma.2015.01.086.
- Cembella, A., Krock, B. (2007). Cyclic imine toxins: chemistry, biogeography, biosynthesis and pharmacology. En: *Seafood and Freshwater toxins: Pharmacology, Physiology and detection*. Editorial:
- Cortés-Altamirano R., Alonso R. R., Salas L.D. (2019). Historical observations of algal blooms in Mazatlán Bay, Sinaloa, México (1979-2014). *PLoS ONE* 14(1):E0210631. ISSN: 1544-9173;
Doi: 10.1371/journal.pone.0210631
- Chun S. W., Hinze M. E., Skiba M.A., Narayan A.R. (2018). Chemistry of a Unique Polyketide-like Synthase. *Journal of the American Chemical Society* 140: 2430-2433. ISSN: 0002-7863. Doi: 10.1021/jacs.7b13297
- Falkowski, P., Raven, J. (2007). *Aquatic photosynthesis*. Editorial Princenton University Press, Segunda edición, New Jersey 502p. ISBN-10: 0691115516
- Farabegoli, F., Blanco, L., Rodríguez, L., Vieites, J., García, A. (2018). Phycotoxins in marine shellfish: origin, occurrence and effects on humans. *Marine drugs*. 16(6):188. ISSN: 1660-3397;
Doi: 10.3390/md16060188
- Fraga, S. (Ed) (2019). *Alexandrium & Pyrodinium*, in IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae. <http://www.marinespecies.org/hab> (Consulta, Septiembre 2019)
- FAO. (2005). *Biotoxinas Marinas*. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. pp. 1-52. <http://www.fao.org/3/a-y5486s.pdf> (Consulta, febrero 2019).
- Field, C., Behrenfeld, M., Randerson, J., Falkowski, P. (1998). Primary production of the biosphere: Integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281: 237-240; ISSN: 0036-8075;
Doi: 10.1126/science.281.5374.237
- Lawrence, J., Niedzwiedek, B., Menard, C. (2005). Quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish using prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection: Interlaboratory study. *Journal of A.O.A.C. International*, 87(1): 83-100. ISSN: 1060-3271.
- Logares R., Shalchian T. K, Boltovskoy A., Regenfors K. (2007). Extensive dinoflagellate phylogenies indicate infrequent marine– freshwater transitions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45:887–903. ISSN: 1095-9513.

López-Magaña J., Manzano M., Hurtado M., Piña P., Hernández O., Guzón O., Hernández F. (2016). Fitoplancton: pequeños centinelas del océano. Ciencia julio-septiembre 2016. <https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/FitoPlancton.pdf> (Consulta, febrero 2019).

Meave del Castillo, M., Zamudio-Resendiz, M. (2018). Planktonic algal blooms from 2000 to 2015 in Acapulco Bay, Guerrero, México. *Acta Botanica Mexicana* 125:61-93. ISSN: 2448-7589;
Doi: 10.21829/abm125.2018.1316

Mendoza F. A., Leyva V. I., Band S. J., Galindo S. C., Bustillos G. J. (2018). Identification of the Gene *sxtA* (Domains *sxtA1* and *sxtA4*) in Mexican Strains of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) and their evolution. *Frontiers, Marine Science*. ISSN: 2296-7745. Doi:10.3389/fmars.2018.00289

Núñez-Vázquez, E., Almazán B. A., López C.D., Heredia T. A., Hernández S. E., Band S. C., Bustillos G. J., Gárate L. I., García M. E., Salinas Z. C., Cordero T. A. (2019). Ciguatera in Mexico (1984-2013). *Marine Drugs* 17,13. ISSN: 1660-3397. Doi: 10.3390/md17010013

Perini, F., Galluzzi, L., Aversano, C., Iacovo, E., Tartaglione, L., Ricci, F., Forino, M., Ciminiello, P., Penna, A. (2014). *StxA* and *sxtG* gene expression and toxin production in the Mediterranean *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *Marine Drugs* 12: 5258-5276. ISSN: 1660-3397; Doi: 10.3390/md12105258

Richard, D., Arsenault, E., Cembella, A., Quilliam, M. (2001). Investigations into the toxicology and pharmacology of spirolides, a novel group of shellfish toxins. *Harmful Algal Blooms 2000*. Hallegraeff, G.M.,

Tillmann, U., John, U., and Cembella, A. (2007). On the allelochemical potency of the marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* against heterotrophic and autotrophic protist. *J. Plankton Res*, 29 (6), 527–543. ISSN: 1464-3774; Doi: 10.1093/plankt/fbm034

Turner, A., Mcnabb, P., Harwood, D., Selwood, A., Boundy, M. (2015). Single- Laboratory validation of a mult toxin ultra-performance LC-Hydrophilic Interaction LC-MS/MS method for quantitation of paralytic shellfish toxins in bivalve shellfish. *Journal of AOAC International* vol. 98 (3): 609-621. ISSN: 1060-3271. Doi: 10.5740/jaoacint.14-275

Wiese, M., Agostino, P., Mihali, T., Moffitt, M., Neilan, B. (2010). Neurotoxic alkaloids: Saxitoxin and its analogs. *Marine Drugs* 39: 2185-2211. ISSN: 1660-3397; Doi: 10.3390/md8072185.

COMPOSTAS ENRIQUECIDAS CON *Bacillus* spp. Y *Trichoderma* spp. EN EL CONTROL DE RABIA EN GARBANZO BLANCO (*Cicer arietinum* L.)

Julián Alberto Galaviz Lara ¹, Pedro Sánchez Peña², Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez¹, Saúl Parra Terraza², Blanca Elvira López Valenzuela³.

Maestría en ciencias agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa-, 1
Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Unidad Sinaloa, 2

Facultad de Agronomía de Culiacán. 3Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte.

juliangl1486@hotmail.com

En México el estado de Sinaloa es el principal productor de garbanzo blanco Sinaloa. En los últimos diez años se han sembrado un promedio de 30 897, ha¹ tanto en riego como en temporal, cosechándose un total de 53 658 ton. (SAGARPA, 2016).

El cultivo de garbanzo blanco tiene como propósito principal la producción de grano para consumo humano, a diferencia del garbanzo café, porquero o forrajero, que es destinado para la alimentación pecuaria. La producción de garbanzo blanco es destinada principalmente para exportación, se considera una fuente importante de divisas para el país.

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es la segunda leguminosa de grano seco que se cultiva alrededor del mundo, sólo después del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Hervas *et al.*, 1998). Una de las principales limitantes de su producción en este estado y otras regiones del mundo, es la enfermedad conocida como "marchitez" o "rabia" del garbanzo, la cual es ocasionada por el complejo de hongos fitopatógenos: *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc. Esta enfermedad causa pérdidas severas en el cultivo que oscilan del 10–50% de la producción (García–Estrada *et al.*, 2004). Algunas de las estrategias que han sido implementadas para su control son la rotación de cultivos, el retiro de socas y el uso de semilla libre de patógenos y/o tratadas con fungicidas; sin embargo, los resultados han sido poco satisfactorios. El desarrollo de plantas con resistencia genética, ofrece la mejor estrategia práctica y económica para el manejo de la enfermedad (Hervas *et al.*, 1998); sin embargo, la presencia de nuevas razas de patógenos limita esta última estrategia (Jiménez–Díaz *et al.*, 1993).

Otra alternativa para el control de la enfermedad es el control biológico utilizando microorganismos antagonistas como bacterias y hongos. Diversas investigaciones han demostrado que el control biológico a través del uso de hongos y bacterias benéficas es una alternativa potencial al uso de fungicidas y/o fumigantes. Por ejemplo, Kaur y Muthamilan (1992) demostraron que en experimentos en campo, el complejo de hongos causantes de la marchitez del garbanzo, incluyendo *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo y K. Sato fue controlado efectivamente por *Trichoderma harzianum* Rifai. Diversas especies de *Bacillus*, aisladas de la rizósfera de garbanzo han demostrado capacidad para inhibir la germinación y el crecimiento de hifas de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* y suprimir el desarrollo de la marchitez del garbanzo (Landa *et al.*, 1997).

La agricultura tecnificada que se practica en gran parte del mundo paradójicamente conlleva a dos escenarios: por un lado contribuye a incrementar el rendimiento y calidad de cosechas y por otra parte genera una disminución de la productividad del suelo y participa en el deterioro del medio ambiente. Aunado a esto, el uso intensivo de productos agroquímicos

contribuye a incrementar los costos de producción de los cultivos, impactando adversamente y de manera significativa, la sustentabilidad de la agricultura (Osorio, 2008).

Ante esta situación, el enfoque de la nueva agricultura se contempla dentro de un marco de sustentabilidad, que involucra la búsqueda de estrategias que disminuyan el empleo de agroquímicos y que contribuyan a conservar el medio ambiente. Una alternativa es la rama de la biotecnología llamada control biológico o biocontrol, el cual, de acuerdo con Cook y Baker (1983), se define como “la reducción de la cantidad de inóculo o de la actividad de un patógeno para producir una enfermedad por o a través de uno o más organismos distintos al hombre”.

Trichoderma es un género de hongos considerados cosmopolitas porque se encuentran en casi todos los suelos de las zonas climáticas del mundo y son importantes descomponedores de materiales leñosos y herbáceos. *Trichoderma* está entre los hongos saprofitos más comunes. Algunas cepas han sido explotadas como agentes de control biológico (BCA) de patógenos, incluyendo hongos y nematodos, todo mediado por la producción de enzimas de degradación de la pared celular, como: celulasas, quitinasas, glucanasas, entre otras, y la producción de antibióticos. Se considera estimulador del crecimiento vegetal (Leandro et al. 2007) e inductor de resistencia sistémica, debido a que modula o estimula algunas respuestas en la planta (Howell & Puckhaber, 2005; Howell, 2006).

Entre los efectos positivos de la inoculación de plantas con *Trichoderma* (Harman et al. 2004; Harman, 2006), se incluyen: - Control biológico de enfermedades causadas por patógenos en la raíz y en algunos foliares. Inducción de resistencia sistémica en las plantas. Mejora la absorción de nutrientes, incluyendo, pero no limitado, al nitrógeno. Mejora de la solubilidad de los nutrientes del suelo. Mayor desarrollo de las raíces. Aumento de la formación de pelos radiculares.

El género *Bacillus* son bacterias Gram positiva, aerobio facultativo comúnmente encontrada en el suelo. Tiene la habilidad para formar una resistente endospora protectora, permitiendo al organismo tolerar condiciones ambientalmente extremas, sus esporas pueden sobrevivir al calor extremo, su importancia en la agricultura se debe a promueve el crecimiento y rendimientos de las plantas, mediante el fomento de la absorción de nutrimentos minerales, síntesis de fitohormonas y la supresión de enfermedades (Costacurta y Vanderleyden, 1995; Guillén-Cruz et al., 2006; Pinton et al., 2001), por medio de antibiosis y la estimulación de mecanismos de defensa del hospedante (Stein, 2005).

La aplicación de las compostas mejora la estructura del suelo, así como la retención de la humedad además facilita la absorción de los nutrientes por parte de la planta (Tisdale y Nelson, 1996, Tan y Napamombodi, 1979, Guerrero, 1996, Bellapar 1996, Bollo, 1999).

Los ácidos húmicos y fulvicos de las compostas mejoran las propiedades físicas químicas y biológicas en los suelos, en consecuencia ocurre un incremento en la fertilidad y productividad (Tisdale y Nelson, 1996, Tan y Napamombodi, 1979, Guerrero, 1996, Bellapar 1996,)

Se ha demostrado la supresión de hongos fitopatogenos del suelo en compostas (Hadar y mandelbaum et al, 1992). Además se ha comprobado la supresión de *pythium spp.* Y

Rhizoctonia solani, utilizando compostas preparadas con desechos orgánicos como por ejemplo la corteza de madera madura, estiércol de res y lodos activados (Chen *et al*, 1987). Uno de los beneficios de las compostas es su potencial para controlar poblaciones de patógenos del suelo (Hadar y mandelbaum, 1992; hoitink *et at*, 1991). Por lo anterior este trabajo tiene como objetivo principal seleccionar cepas de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp., nativos de la región para enriquecer compostas en el control de la enfermedad “rabia” en garbanzo blanco.

HIPOTESIS

La composta enriquecida con *Bacillus* y *Trichoderma* controlan la enfermedad conocida como rabia (*fusarium*, *macrophomina* y *Rhizoctonia*) en garbanzo blanco (*Cicer arietinum* L.)

OBJETIVO GENERAL:

Seleccionar cepas de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp., nativos de la región para enriquecer compostas en el control de la enfermedad “rabia” en garbanzo blanco.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 1 - Aislar y seleccionar cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* nativas como antagonistas a los patógenos causantes de la rabia del garbanzo.
- 2-Identificar morfológicamente y molecularmente las cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* seleccionadas en garbanzo.
- 3- Comparar composta de bocashi contra lombricomposta en el control de rabia en garbanzo.
- 4- Evaluar composta enriquecida con las mejores cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* para el biocontrol de la rabia en garbanzo en campo.

MATERIALES Y METODOS

Muestreo de suelo con raíces.

Se tomaron 50 muestras de suelos y raíces de plantas de cultivos de leguminosas, principalmente de garbanzo, en los Valles de Angostura, Guasave y Ahome.

Las muestras con suelos y raíces se llevaron al laboratorio de Nutrición Vegetal del Instituto Politécnico Nacional CIIDIR- Sinaloa para sus aislados de *Bacillus* y *Trichoderma*. Los datos geográficos de los sitios de colecta se obtuvieron mediante GPS (cuadro 1).

Localidades donde se tomaron muestras de suelo.

LOCALIDAD	COORDENADAS
El Zopilote, Guasave	25° 44' 44.7" N 108° 20' 58.9" W
Portugués de Gálvez, Guasave	25° 43' 23.9" N 108° 23' 42.4" W

El Baral, Guasave	25° 38' 34.5" N 108° 25' 39.1" W
León Fonseca, Guasave	25° 43' 20.9" N 108° 21' 0.50" W
El Zopilote, Guasave	25° 44' 53.8" N 108° 20' 45.3" W
La Cofradía, Guasave	25° 27' 37.9" N 108° 26' 13.2" W
San Antonio, Guasave	25° 32' 39.6" N 108° 31' 0.43" W

Cuadro 1. Localización GPS de los sitios muestreados

Aislados de *Bacillus* spp y *Trichoderma* spp.

Para aislar *Bacillus*, se pesó un gramo de suelo de la rizosfera se diluye en 9 ml de solución salina estéril (NaCl 0.85%); se agito en bortex y se pasteurizo a 80 °C en baño maría por 15 minutos, se sembró 1 mililitro de inóculo en 9 mililitros de infusión de papa dextrosa (IPD) estéril. Se incubo a 37° C por 24 horas y se pasteurizo de nuevo a 80°C por 20 minutos y de ahí se pasó a placas con medio de cultivo agar nutritivo (AN). Las colonias que presentaron las características morfológicas de *Bacillus* (colonia irregular plana, color crema sin brillo), se resembraron en cajas con AN por estría y se incubaron. Los aislados se preservaron en tubos con AN inclinado.

Los aislados de *Trichoderma* spp. Se obtuvieron mediante la técnica reportada por Papavizas y Davey (1959). Se mezcló dextrosa, peptona, extracto de levadura, NH₄NO₃, K₂HPO₄, MgSO₄ 7H₂O, extracto de bilis de buey, propionato de sodio, agar y agua destilada hasta completar 1 L. El medio fue esterilizado a 20 lb/pulg² por 15 minutos a 120 °C, y posteriormente se añadió amoxicilina como antibiótico. Cuando el medio estuvo a una temperatura de 40 a 45 °C se transfirió a placas Petri. Antes de solidificar, se sembraron 50 mg de suelo en cada placa y se incubaron hasta crecer el micelio característico del género *Trichoderma*.

Selección en invernadero de las cepas de *Bacillus*, *Trichoderma* y composta.

Se establecieron dos experimentos de invernadero, uno para seleccionar cepas de *Bacillus* y otro para seleccionar cepas de *Trichoderma*. Después se estableció un segundo experimento con las mejores cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* del primer experimento, este fue con compostas bocashi y lombricomposta estas fueron enriquecidas con las cepas de *Bacillus* y *Trichoderma*.

En ambos experimentos de selección los tratamientos fueron las diferentes cepas aisladas, y un tratamiento (control) con medio de cultivo (infusión de papa) sin microorganismo, cada tratamiento con cuatro repeticiones, en un diseño experimental completamente al azar, la unidad experimental fue una maceta con un volumen de 3.0 L la cual se llenó con suelo contaminado con rabia.

Para *Trichoderma*, se elaboró inóculo con la reproducción de esporas, en bolsas con trigo triturado esterilizado para después se inoculo con *Trichoderma*, y posteriormente a los diez días se lavó las esporas producidas con agua destila estéril con aproximadamente de 6 a 8 esporas mL⁻¹ que fue el inóculo utilizado a las semillas según el tratamientos en el experimento de selección de aislados de *Trichoderma*.

Para *Bacillus* se creció en medio de cultivo LB, para ser inoculadas las semillas de garbanzo. Se inoculó con los diferentes aislados de *Bacillus* según el tratamiento se sembró las semillas inoculadas

Las variables de respuesta a evaluar fueron; Volumen y peso seco de raíces, altura de planta, y peso seco de la planta, incidencia y severidad de la enfermedad “rabia” en garbanzo.

Experimento de selección de *Trichoderma*, al igual que el experimento para seleccionar *Bacillus*, el número de tratamiento fueron 15 para *Trichoderma* y 11 para *Bacillus*, y un testigo tratamiento sin inóculo. En un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Se evaluaron las mismas variables de respuestas en el anterior experimento. El cultivo se cosechó a los 60 días después de la siembra.

Identificación morfológica de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Para identificar morfológicamente a *Bacillus*, se sembraron los aislados en placas con medio de cultivo AN. Se incubaron a 37 °C por 24 horas. De las placas con crecimiento se tomaron muestras seleccionando las colonias con características del género *Bacillus* de acuerdo al Manual de Clasificación de Bergey (Claus y Berkeley, 1986). Posteriormente se pasaron a placas por agotamiento para su purificación. Los aislados se sometieron a una prueba de tinción de Gram y se observaron con un microscopio biológico para comprobar la pureza y determinar las características micro morfológicas y tintoriales de los mismos, así como la presencia de esporas.

Los aislados del género *Trichoderma* fueron sembrados en placas Petri en medio de cultivo PDA, y se identificaron morfológicamente mediante el reconocimiento de sus estructuras macroscópicas (color de micelio, forma de micelio y crecimiento). Posteriormente, se prepararon muestras frescas de micelio sobre portaobjetos para observar sus estructuras microscópicas (hifas, esporas, clamidosporas) en un microscopio epifluorescente. Las características macro y microscópicas fueron comparadas con las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972); Bisset (1991) y Von Arx (1981).

Identificación molecular de *Bacillus* y *Trichoderma*.

Las cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* seleccionadas como antagonistas a la enfermedad “rabia” en garbanzo, se identificaron molecularmente, iniciando con la extracción de los diferentes aislados con el kit DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN, Hilden, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante. En la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los aislados se amplificó el gen 16S empleando los oligonucleótidos F2C y C (White et al., 1990). Los productos de PCR amplificados se secuenciaron bidireccionalmente. Las secuencias fueron editadas en el software y comparadas en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) utilizando el software BLAST-N y el algoritmo

Análisis de las secuencias de *Trichoderma*.

Las muestras se enviaron al Laboratorio de Secuenciación de CINESTAV-Irapuato y una vez que estas se determinaron se comparó su homología con las de la base de datos

del GenBank utilizando el programa Blast del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Cuadro de escala de severidad

Escala

Daño en la planta

Imagen

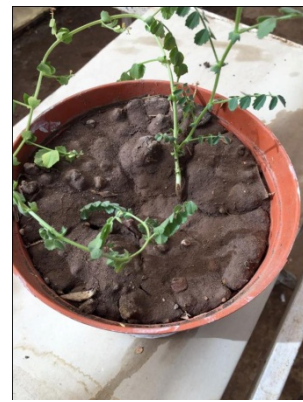
0

Planta sana en la parte aérea



1

Planta manchado la corona del tallo



2

Planta manchada y seca una 3ra parte del follaje



3 Planta manchada la mitad del follaje



4 Planta Completamente muerta



RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Peso seco de follaje y altura de planta en experimento de invernadero de selección de cepas de *Bacillus*.

El tratamiento con mayor producción de peso seco de follaje fué el tratamiento 11 (C12) con 1.77 g, el cual presentó diferencia significativa solamente con el tratamiento 7 (C8), y este no presentó diferencias significativas con los demás tratamientos incluyendo el testigo en donde presentaron 2 plantas muertas. El tratamiento 11 no presentó plantas muertas, sin embargo se observó necrosis en el cuello del tallo, el siguiente tratamiento en mayor rendimiento en peso seco fue el tratamiento 4 (C4) con 1.60 g el cual no presentó ningún síntoma en el follaje provocado por la enfermedad de "rabia"

Comparación de media de tratamientos en peso seco de follaje y altura de planta en el experimento de selección de cepas de *Bacillus* para el control de rabia en garbanzo.

Núm. de tratamiento	Tratamiento	Peso seco de follaje	Altura de Planta
		(g)	(cm)
1	C1	1.26 ab	37.25 b

2	C2	0.72 ab	35.00 b
3	C3	0.55 ab	40.75 ba
4	C4	1.60 ab	49.25 a
5	C5	0.49 ab	38.00 b
6	C7	1.02 ab	39.75 ba
7	C8	0.30 b	35.50 b
8	C9	1.00 ab	39.00 b
9	C10	0.97 ab	35.25 b
10	C11	0.91 ab	40.50 ba
11	C12	1.77 a	43.75 ba
12	Testigo	0.57 ab	39.50 ba

Medias con letra iguales en cada columna no presentan diferencia significativa según, Tukey ($P \leq 0.05$)

Volumen y peso de raíz en experimento en invernadero de selección de cepas de *Bacillus*.

En peso seco raíz el mejor tratamiento fue el 4 (B4) 0.24 g donde no se murió ninguna planta ni presentaron síntomas en el follaje ocasionados por la enfermedad de la “rabia”. El tratamiento 1 (B1) 0.17 g, y el 11 (C12) fue el que le siguieron en peso seco de raíz. En el volumen de raíz el mejor tratamiento fue el 4 (B4) 2.27 ml, sin ninguna planta muerta ni dañada el follaje, donde si hubo diferencia significativa

Respecto al tratamiento testigo donde se murieron dos plantas.

Comparación de media de tratamientos en peso seco y volumen de raíz en el experimento de selección de cepas de *Bacillus* para el control de rabia en garbanzo.

Núm. de tratamiento	Tratamiento	Peso seco de raíz	Volumen de raíz
		(g)	(ml)
1	C1	0.17 ba	1.62 abc
2	C2	0.15 bc	1.32 bc
3	C3	0.14 bc	1.30 bc
4	C4	0.24 a	2.27 a
5	C5	0.13 bc	1.37 bc
6	C7	0.09 c	1.1 c
7	C8	0.10 bc	1.12 c
8	C9	0.11 bc	0.50 bc
9	C10	0.13 bc	1.42 bc
10	C11	0.1 bc	1.25 bc
11	C12	0.17 ba	1.92 ab

12	Testigo	0.10 bc	1.32 bc
----	---------	---------	---------

Medias con letra iguales en cada columna no presentan diferencia significativa según, Tukey ($P \leq 0.05$)

Peso seco de follaje y altura de planta en experimento de invernadero en la selección de cepas de *Trichoderma*.

La mayor producción de peso seco de follaje fueron los tratamientos 1 (C1), 9 (C20) y 13 (C24) con 1.33 g, 1.13 g y 1.26 g respectivamente, pero no presentaron diferencias estadísticas entre todos los tratamientos, en estos tratamientos solo se presentaron tallos manchados (tratamiento 13) y en el tratamiento 1 y 9 las plantas estuvieron sanas durante el cultivo. En altura de planta el tratamiento 1 (C1) 43.25 cm si tuvo diferencia significativa contra los tratamientos 2,7,8 y 12, y con el resto no tuvo diferencia estadística .

Comparación de media de tratamientos en peso seco de follaje, altura de planta, en el experimento de selección de cepas de *Trichoderma* para el control de rabia en garbanzo.

Núm. de tratamiento	Tratamiento	Peso seco de follaje (g)	Altura de Planta (cm)
1	C1	1.33 a	43.25 a
2	C6	0.58 a	31.00 bc
3	C7	0.11 a	34.00 abc
4	C8	0.54 a	39.00 abc
5	C15	0.90 a	39.00 abc
6	C16	0.77 a	36.75 abc
7	C17	0.52 a	30.75 bc
8	C19	0.49 a	30.00 bc
9	C20	1.13 a	35.5 abc
10	C21	0.76 a	38.79 abc
11	C22	0.72 a	38.00 abc
12	C23	0.58 a	27.50 c
13	C24	1.26 a	38.50 abc
14	C25	0.92 a	35.50 abc
15	C26	0.97 a	35.50 abc
16	Testigo	0.80 a	40.75 ab

Medias con letra iguales en cada columna no presentan diferencia significativa según, Tukey ($P \leq 0.05$)

Peso seco y volumen de raíz en experimento de invernadero en la selección de cepas de *Trichoderma*

En el peso seco de raíz el tratamiento mejor fue el 9 (C20) 0.19 g donde solamente se obtuvo diferencia estadística con el testigo, y los tratamientos 2, 5, y 12. En el volumen de

raíz el mejor tratamiento fue el 4 (C8) que si tuvo diferencia estadística respecto testigo tratamiento 16, y a los tratamientos 2, 3,7,8,12 y 14.

Comparación de media de tratamientos en peso seco y volumen de raíz en el experimento de selección de cepas de *Bacillus* para el control de rabia en garbanzo.

Núm. de tratamiento	Tratamiento	Peso seco de raíz	Volumen de raíz
		(g)	(ml)
1	C1	0.14 abc	1.62 abc
2	C6	0.067 c	1.02 c
3	C7	0.11 abc	1.12 bc
4	C8	0.12 abc	2.05 a
5	C15	0.08 c	1.37 abc
6	C16	0.12 abc	1.32 abc
7	C17	0.10 abc	1.17 bc
8	C19	0.13 abc	1.12 bc
9	C20	0.19 a	1.87 ab
10	C21	0.13 abc	1.50 abc
11	C22	0.06 abc	1.35 abc
12	C23	0.09 bc	1.17 bc
13	C24	0.12 abc	1.62 abc
14	C25	0.18 ab	1.12 bc
15	C26	0.12 abc	1.25 abc
16	Testigo	0.11 abc	1.20 bc

Medias con letra iguales en cada columna no presentan diferencia significativa según, Tukey ($P \leq 0.05$)

CONCLUSIONES.

Se obtuvieron cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* promotoras de crecimiento y antagonistas contra la enfermedad de la “rabia” en cultivo de garbanzo.

La identificación molecular en *Trichoderma* ubica las dos mejores cepas como especie *harzianum*. La diferencia en la velocidad de crecimiento radial indica que se tratan de cepas diferentes. En *Bacillus* las dos mejores cepas correspondieron a B12 *Bacillus megaterium* con un alineamiento del 100% y B4 a *Bacillus pumilus* con un alineamiento del 100%.

El mejor tratamiento fue la composta Bocashi enriquecida con *Bacillus*, con cero en la escala de severidad le siguió el tratamiento inoculado solamente con *Trichoderma* T1 con uno en 1 escala de severidad.

LITERATURA CITADA

Armenta-Bojórquez A. D., García-Gutiérrez C., Camacho-Báez, J. R., Apodaca-Sánchez, M. A., Gerardo-Montoya, L. y Nava-Pérez E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai* 6:51-56.

Armenta B.A.D., Ferrera-Cerrato R., Trinidad S.A. y Volke H.V.1986. Fertilización e Inoculación con *Rhizobium* y Endomicorrizas (V-A) en Garbanzo Blanco (*Cicer arietinum* L.) en Suelos del Noroeste de México. *Agrociencia* (65) 141-160.

Bashan Y. and Holguin G. 1998. Proposal for the division of plant growth- promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1225-1228.

Bellapart, C. 1996. Nueva agricultura biológica en equilibrio con la agricultura química. Ediciones Mundi- prensa Barcelona, España. 298 pp.

Chena, G.R., Crispin, M.A. y Larrea R.E. 1981. Cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en producción de granos y forrajes. 2ª Ed. Editorial Limusa, México. Pp: 469-499.

Guillén-Cruz, R., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar-González, C. N., Padrón-Corral, E. y Reyes-Valdéz, M. H. 2006. *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado por *Fusarium* spp., *R. solani* Kuhn, y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo del chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 24:105-114.

Guerrero, A. 1996. El suelo, los abonos orgánicos y fertilización de los cultivos. Ediciones Mundi- prensa Bilbao, España. 206 pp.

Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:190-194.

HOWELL, C.R. 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopath.* 96(2):178-180.

HOYOS C., L.M.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biol. Control.* 51:409-416.

Pinton, R., Varanini, Z. and Nannipieri, P., 2001. The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants and microorganisms. *In* R. Pinton, Z. Varanini, P. Nannipieri (eds.). *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances in the Soil-Plant Interface.* Marcel Dekker, New York, 1-17 p.

Pulido L. E, Medina N, Cabrera A. 2003. Biofertilización con rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.) y cebolla (*Allium cepa* l.). i. crecimiento vegetativo. *Redalyc.* 24(1): 15-24.

Rives N, Acebo Y, Hernández A. 2007. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Perspectivas de su uso en Cuba. Redalyc. 28(2): 29 – 38.

Tisdale, S.L., and Nelson, W. 1996. Soil fertility and fertilizers. Edición 2th Macmillan Company. New York, Estados Unidos. 694 pp.

Tan, K.H. and Napomombodi, v 1979. Effect of different level of humic acids on nutrient content and growth of corn (*Zea mays*). Plant and soil 51:283-287

FISIOLOGÍA DIGESTIVA DE JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis sp.*) CULTIVADOS EN AGUA MARINA CON BIOFLOC Y PROBIÓTICOS.

Ángel de Jesús Sánchez Ramírez¹, Dr. Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca², Dra. María Isaura Bañuelos Vargas², Dr. Emmanuel Martínez Montañó³, Dra. María del Rosario Pacheco Marges², Dr. Otoniel Carranza Díaz².

1. Maestría en Ciencia en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Correo electrónico: jesus_9113@hotmail.com
2. Facultad de Ciencias del Mar, UAS.
3. Cátedra del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt), Universidad Politécnica de Sinaloa (UPSIN)

RESUMEN

Las tilapias rojas (*Oreochromis sp.*) poseen características favorables de adaptación a altas salinidades (0 a 35 ‰) pero se conoce poco de su respuesta fisiológica, metabolismo y de crecimiento durante su producción en sistemas marinos con biofloc. Durante el presente estudio se evaluaron los efectos de dos densidades de cultivo (D1: 129 org/m³ y D2: 258 org/m³), con biofloc (D1B y D2B) y con biofloc con probióticos comerciales (D1Bp y D2Bp). Para cada densidad se trabajó con un tratamiento Control (C) de agua clara sin biofloc (D1C y D2C). En todos los tratamientos con biofloc (con o sin probióticos) se utilizó melaza como fuente de carbono para promover el desarrollo del biofloc, a una relación de 20:1 (C:N). Los probióticos comerciales utilizados (AQUABLEND®, AQUAPROTEC® y NUTRIMAX®) se añadieron diariamente. Al final del experimento se tomaron muestras de intestino anterior, medio, posterior y de estómago para determinar la actividad enzimática digestiva (pepsina, tripsina, quimotripsina, actividad proteolítica alcalina total, lipasa, leucina aminopeptidasa y amilasa). Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas en la actividad de todas las enzimas, presentando la mayor actividad el tratamiento D2BP, lo cual nos indica el efecto positivo que ejercen los probióticos y los sistemas de biofloc en el aumento de la actividad enzimática digestiva.

ABSTRACT

The red tilapias (*Oreochromis sp.*) Have favorable characteristics of adaptation to high salinities (0 to 35 ‰) but little is known of their physiological response, metabolism and growth during their production in marine systems with biofloc. During the present study the effects of two culture densities (D1: 129 org / m³ and D2: 258 org / m³), with biofloc (D1B and D2B) and with biofloc with commercial probiotics (D1Bp and D2Bp) were evaluated. For each density we work with a Control treatment (C) of clear water without biofloc (D1C and D2C). In all biofloc treatments (with or without probiotics), molasses was used as a carbon source to promote biofloc development, at a ratio of 20: 1 (C: N). The commercial probiotics used (AQUABLEND®, AQUAPROTEC® and NUTRIMAX®) were added daily. At the end of the experiment samples were taken from the anterior, middle, posterior and stomach intestines to determine the digestive enzymatic activity (pepsin, trypsin, chymotrypsin, total

alkaline proteolytic activity, lipase, leucine aminopeptidase and amylase). The results obtained show significant differences in the activity of all the enzymes, presenting the highest activity D2BP treatment, which indicates the positive effect exerted by probiotics and biofloc systems in the increase of digestive enzymatic activity.

INTRODUCCIÓN

Se han desarrollado nuevos métodos y tecnologías que permiten obtener una mayor producción de peces, así como un mejor manejo de la calidad de agua y reducir las descargas de los efluentes de los cultivos por acuicultura (Watanabe, 2002). Uno de estos sistemas de producción es la tecnología con biofloc (BFT por sus siglas en inglés), la cual es considerada como una de las técnicas más ecológicas y sostenibles para la utilización en sistemas de cultivo sin recambio de agua, el sistema BFT se basa en la generación de flóculos microbianos formados a partir de la incorporación de fuentes de carbono externa como melaza lo que permite el crecimiento de una comunidad microbiana heterótrofa que metaboliza los carbohidratos y toma nitrógeno inorgánico del medio, reduciendo sus niveles dentro del sistema. Lo anterior puede generar el beneficio adicional de proteína microbiana como fuente de alimento, lo que pueden reducir los costos de alimentación por encima del 25% (Avnimelech y Kochba, 2009). Es importante considerar que cada especie de tilapia puede tener una diferente respuesta de rendimiento a los diferentes niveles de salinidad y ante diferentes condiciones de cultivo. Por lo cual, es necesario realizar diversos estudios para evaluar la influencia de estas condiciones sobre el crecimiento de los peces. Además del rendimiento, es necesario evaluar el efecto de la salinidad sobre la salud y los órganos de los peces, pues se ha demostrado que el tracto digestivo y las branquias, que permanecen en contacto directo con el agua y bajo cambios físicos y químicos constantes, pueden sufrir alteraciones morfológicas (De Azevedo *et al.*, 2015).

Asimismo, el estudio de las enzimas digestivas, sus características, funcionalidad y adaptaciones al régimen alimenticio, conforman uno de los campos de investigación más amplios e interesantes en la nutrición de especies cultivadas. Un gran número de investigaciones han abordado aspectos que van desde la descripción de los parámetros funcionales de las principales enzimas hasta la forma en que estas pueden ser utilizadas para modelizar la digestión en una especie concreta o su papel como indicadores de la condición nutricional durante sus diferentes etapas de desarrollo (Moyano, 2006). En este contexto, destaca de manera relevante la función del aparato digestivo, ya que su papel es el de actuar como interface entre el alimento del organismo, dado que en él se lleva a cabo la manipulación inicial, hidrólisis y transferencia de los nutrientes hacia el interior del cuerpo (Maravi, 2017). Así, en las fases de hidrólisis y transferencia de nutrientes, las enzimas digestivas cumplen un papel primordial, tanto las que inician la degradación de las macromoléculas en los primeros compartimentos del tracto digestivo, como las que completan dicha transformación y colaboran en la absorción de los principios inmediatos a

nivel del epitelio intestinal. De aquí se deduce la gran importancia de obtener un conocimiento detallado de tales enzimas, cuyo funcionamiento se ve afectado en diferente medida por un buen número de factores, ligados tanto a la fisiología del animal, como a las características del alimento o la forma en que este es suministrado. Dicho conocimiento posee indudables repercusiones de índole práctica en la optimización de la alimentación de las diferentes especies (Moyano, 2006). Se ha reportado que el biofloc o sus microorganismos podrían ejercer un efecto positivo sobre la actividad enzimática digestiva, ya que este exhibe acción de proteasas y amilasas lo que se ha relacionado con las características benéficas del biofloc, como el contenido nutricional y la actividad enzimática extracelular (Maravi, 2017). Sin embargo, se sabe poco del efecto que tiene el BFT sobre la fisiología de los peces, particularmente en lo que respecta a la actividad de las enzimas digestivas y los cambios histológicos que sufren los organismos (Xu y Pan, 2012; Long *et al.*, 2015). Asimismo, es poca la información referente a los efectos de la densidad de cultivo sobre la actividad de las enzimas digestivas de los organismos cultivados, y si el uso de probióticos comerciales puede potenciar los efectos benéficos del biofloc en el rendimiento de los híbridos de tilapia roja cultivada en agua marina.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El aumento de la producción acuícola de la tilapia está limitado por la disponibilidad de agua dulce, por lo que para intensificar su producción se requiere de sistemas intensivos viable y ambientalmente aceptable, como es la tecnología con biofloc. Además de buscar alternativas de producción en ambientes disponibles, como lo son los sistemas de aguas salobres o marinas. Sin embargo, debemos considerar los efectos del desarrollo de tales condiciones sobre la calidad del agua y sus efectos en la respuesta fisiológica de los peces y como se refleja en su respuesta de crecimiento y supervivencia.

HIPÓTESIS

La inclusión de probióticos comerciales, promoverá mayores parámetros productivos, cambios en la actividad enzimática digestiva y una mejora en la morfología intestinal de los juveniles híbridos de tilapia roja cultivados en un sistema biofloc desarrollado en agua marina, independientemente de la densidad de cultivo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta fisiológica digestiva y la morfología intestinal de juveniles híbridos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) cultivados en sistemas marinos con biofloc y probióticos.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la actividad de las enzimas clave en el sistema digestivo de los juveniles de tilapia roja cultivadas a diferentes densidades en sistemas marinos con biofloc y probióticos.

- Documentar los cambios histológicos en intestino y estomago de los juveniles de tilapia roja cultivados a diferentes densidades en sistemas marinos con biofloc y probióticos.
- Relacionar la morfología intestinal con la actividad enzimática digestiva de los juveniles de tilapia roja cultivados a diferentes densidades en sistemas marinos con biofloc y probióticos.

MATERIAL Y METODOS

Obtención de los organismos

Se obtuvieron 2000 crías de tilapia roja masculinizadas a la empresa “Campo Inglés” del estado de Morelos; los cuales fueron trasladados al laboratorio de cultivo de peces de la Facultad de Ciencias del Mar, en Mazatlán, Sinaloa. Semanas previas al inicio del experimento, los peces fueron aclimatados hasta lograr su mantenimiento en agua de mar.

Diseño experimental

Para este estudio se trabajo con un diseño factorial 3x2; donde se evaluará el efecto de dos densidades (D1= 40 organismos y D2= 80 organismos) de cultivo de juveniles de tilapia roja en agua de mar. Para cada densidad se tendrá un control de agua clara (D1c y D2c), con biofloc (D1b y D2b) y con biofloc y un probiótico comercial (D1 bp y D2bp). En total serán 6 tratamientos con 3 réplicas cada uno; las cuales serán distribuidas completamente al azar (Tabla 1).

Tabla 1.- Diseño experimental

Factor A (Tratamientos de prueba)			
Factor B (Densidad)	Control (C)	Biofloc (BP)	Biofloc + probióticos (BP)
Densidad 1 (129 org/m ³)	D1C	D1B	D1BP
Densidad 2 (258 org/m ³)	D2C	D2B	D2BP

Para este experimento se acondicionaron 18 tinacos con capacidad de 400 L marca Rotoplas®, los cuales se llenaron a un volumen de 310 L. Para la aireación se utilizaron aireadores circulares de manguera Aerotube® de 1/2” (25 cm de diámetro) que estaban conectados a un blower de 2.5 HP. Se utilizo agua de mar de la bahía de Mazatlán (previamente filtrada a 50 µm) para las diferentes unidades experimentales. Durante el

experimento, se realizó el monitoreo de la temperatura (T °C), oxígeno disuelto (mg/L) y salinidad (‰). Una vez por semana se midieron las variables de pH, amonio (mg/L), nitratos (mg/L), nitritos (mg/L) y alcalinidad (mg/L), utilizando kits comerciales de YSI. Cabe destacar que cuando la alcalinidad fue menor a los 100 mg/L, fue necesario adicionar carbonato de calcio o bicarbonato de calcio para ajustar su concentración. La cantidad de flóculos (ml/L) se midió una vez por semana, utilizando conos de sedimentación Imhoff.

Previo inicio el experimento, los tanques en los que se desarrollo el biofloc se agrego diariamente por un periodo de 5 días. 0.6 g de urea (1.5 mg/L), 8 g de salvado de trigo (20 mg/L), 0.32 g de ácido fosfórico (0.6 mg/L) y 10 g de alimento comercial (Nutripec) y melaza respectivamente. En los tratamientos con probióticos comerciales (AQUABLEND®, AQUAPROTEC® y NUTRIMAX®), estos se añadieron diariamente en las siguientes cantidades: durante 3 días 1.55 g de cada uno (5 g/m³); luego durante 7 días 0.7 g (2.25 g/m³) y el resto del experimento 0.31 g (1 g/m³), los probióticos comerciales fueron incubados un día antes de su adicción, con las fuentes de carbono, agua de mar y aireación. Una vez preparados los tanques y desarrollado el biofloc, se introdujeron 129 org/m³ (D1) y 258 org/m³ (D2) juveniles de tilapia por unidad experimental con un peso promedio inicial de 6.90 ± 0.45 g, los cuales se mantuvieron durante 6 semanas en pre-engorda. Una vez sembrados los organismos se adiciono una relación carbono C:N de aproximadamente 20 :1 por un periodo de 2 semanas, el porcentaje de adición de las fuentes de carbono se reajustado semanalmente durante el desarrollo del cultivo, hasta disminuir a una relación C:N de 10:1.

Alimentación

Durante la etapa experimental, se realizaron biometrías de peso (±0.01 g) semanales (10 - 20 organismos por tanque) para calcular la biomasa, (lo que permitió ajustar la ración de alimento en base al crecimiento de los organismos y de la cantidad de flóculos (ml/L). La ración de alimento por unidad experimental se suministro en dos partes (8:00 y 17:00 h). En las primeras 3 semanas se administro el alimento en un 5% de la biomasa total de cada tanque, y las siguientes 3 semanas se administrará el 3% de la biomasa. Al final del experimento se realizaron biometrías de peso y talla individual de los organismos. Asimismo, se colectaron muestras de tejido digestivo y se almacenaron para su posterior análisis.

Indicadores zootécnicos

Los indicadores de crecimiento que se calcularon al final del experimento son los siguientes: Factor de conversión alimenticia (FCA), Tasa de crecimiento específico (TCE, %/día), Tasa de eficiencia proteica (TEP) y Supervivencia (S, %).

Análisis de la actividad enzimática

Al final del experimento se sacrifico un lote de organismos de cada replica y se tomaron muestras de estomago e intestino anterior, medio y posterior para su posterior análisis. Las muestras se colocaron en hielo seco. Cada sección se homogenizo en una solución buffer 50

Mm Tris-HCL, pH 7.5. El extracto se centrifugo (10,000 rpm) durante 15 min y el sobrenadante se retiro. El cual se utilizo como extracto crudo enzimático. Las actividades enzimáticas que se estimaron fueron las siguientes: Proteasas totales alcalinas (por el método de Kunitz, 1947 modificado por Walter, 1984); Proteasas totales ácidas o pepsinas (por el Método de Anson, 1938, utilizando hemoglobina al 1% como sustrato'); Tripsina, por el método de Erlanger *et al.*, 1961 utilizando BAPNA como sustrato; Quimiotripsina por el método de Geiger, 1984, utilizando SAPNA como sustrato; Lipasa por el método de Gjellesvik *et al.*, 1992, utilizando 4-NPO como sustrato; Leucina aminopeptidasa por el método de Appel, 1974, modificado por Roger *et al.*, 2002, utilizando L-leucina-p-nitroanilida y amilasa, por el método de Vega-Villasante, 1993.

Análisis histológico

Las muestras frescas de tejido digestivo fueron colocadas en unisettes y se colocaron en solución Davidson por un periodo de 48 horas, posteriormente fueron colocadas en alcohol al 70% para posteriormente realizar el proceso de deshidratación y tinción de acuerdo con el método de Hematoxilina-Eosina.

RESULTADOS

Tratamiento	Pepsina	APAT	Tripsina	Quimotripsina	Lipasa	LAP	Amilasa
D1C	253.39 ± 72.45 ^b	52.2 ± 20.40 ^b	0.07 ± 0.03	0.013 ± 0.003	1.5 ± 0.68	204.60 ± 63.82	31.82 ± 6.18
D1B	423.07 ± 295.12 ^{b,A}	125.43 ± 68.23 ^{ab}	0.18 ± 0.08	0.014 ± 0.002	1.8 ± 1.41	211.05 ± 169.82	63.10 ± 36.68
D1BP	558.90 ± 389.12 ^{a,A}	221.49 ± 84.85 ^{a,B}	0.18 ± 0.08 B	0.016 ± 0.001 ^B	3.1 ± 2.69 B	63.80 ± 9.49 ^B	63.03 ± 29.36 ^B
D2C	300.99 ± 121.71	104.57 ± 33.94 ^y	0.17 ± 0.09 y	0.010 ± 0.001 ^y	2.1 ± 0.88 y	54.23 ± 17.08 ^y	91.50 ± 25.22 ^b
D2B	195.63 ± 95.95 ^B	210.77 ± 124.94 ^y	0.30 ± 0.13 y	0.030 ± 0.023 ^y	3.1 ± 0.84 y	58.71 ± 9.90 ^y	117.38 ± 60.55 ^b
D2BP	312.20 ± 194.14 ^B	458.18 ± 94.78 ^{x,A}	0.78 ± 0.11 x,A	0.051 ± 0.045 ^{x,A}	9.62 ± 1.63 ^{x,A}	315.71 ± 53.62 ^{x,A}	228.59 ± 34.10 ^{a,A}

ANOVA 2 VIAS

S	0.832	0.00	0.00	0.018	0.000	0.288	0.00
D	0.317	0.00	0.00	0.007	0.001	0.641	0.00

Tabla 2.- En la parte superior de la tabla se presentan los valores de media \pm desviación estándar de la actividad enzimática digestiva de la parte anterior del intestino. Las letras representan minúsculas (a y b) representan diferencias significativas entre los tratamientos de la densidad 1 (D1C, D1B y D1BP) mientras que las letras (x,y) representan diferencias significativas entre los tratamientos de la densidad 2 (D2C, D2B y D2BP), las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre densidades de cultivo (ANOVA 1 VIA). En la parte inferior de la tabla se presentan los resultados de P en el análisis de ANOVA 2 VIAS, donde D (Densidad, alta o baja), S (Sistema, control, biofloc, biofloc + probiótico) y D*S (la interacción densidad*sistema, con respecto a la variable).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De manera general se mostro una notaria contribución de la adición de probióticos al sistema de biofloc, en el cual se puede apreciar un aumento en la actividad de todas la enzimas digestivas analizadas, siendo mayor en el tratamiento D2BP, los cual nos indica el efecto positivo que ejercen la bacterias al ser adicionadas al cultivo (Tabla 2).

Pepsina

En los peces que presentan estomago la digestión inicia en el estomago, donde las glándulas de la mucosa gástrica secretan ácido clorhídrico y pepsinogeno para la digestión de las proteínas, donde el primero crea un ambiente acido (pH 2 a 4) para la optima actividad de la pepsina. La pepsina da lugar a grandes fragmentos proteicos y algunos aminoácidos libres que pasarán al intestino, donde luego serán absorbidos (Martínez *et al.*, 2017). En el presente estudio la actividad de pepsina para todos los tratamientos fue mayor en el tratamiento D1BP (558.90 + 389.12 U/mg de proteína) lo cual difiere con los resultados obtenidos por Ramirez *et al.*, 2017, los cuales obtuvieron un valor de 64.75 ± 5.23 U/mg de proteína, ellos concluyen que en el estómago es donde se realiza la mayor parte de la hidrólisis de proteínas, debido a que la actividad de las proteasas ácidas fue mayor a la de las proteasas intestinales, lo cual se pudo observar en el presente estudio. Cabe mencionar que son dos especies distintas en ambos trabajos

Proteasas alcalinas totales, tripsina y quimotripsina

La digestión de las proteínas comienza usualmente por la segregación de pepsina (en el estómago), siendo completada por la segregación de proteasas alcalinas (en el intestino), tales como la tripsina y la quimotripsina, las cuales son las principales enzimas digestivas secretadas en la porción anterior del intestino y son las más estudiadas porque participan en la digestión de las proteínas en todos los animales tanto terrestres como acuáticos. Debido a la importancia de la proteína en la nutrición de peces, una serie de estudios se han enfocado en el papel de la tripsina como indicador nutricional, ya que se le considera una enzima clave en el proceso de la digestión, mientras que la quimotripsina es activada cuando el quimiotripsinógeno es secretado al lumen y entra en contacto con la tripsina (Maravi, 2017). Los sistemas biofloc ha demostrado que son útiles para proporcionar nutrientes adicionales y enzimas digestivas exógenas (Xu et al., 2012). Diversos estudios han indicado que los

flóculos contienen enzimas extracelulares, como proteasas y amilasas, las cuales pueden actuar como suplemento de enzimas para hidrolizar las proteínas y los carbohidratos en el intestino de los animales y mejorar el rendimiento del crecimiento (Yu et al., 2007). La utilización de probióticos en la maduración de cultivos en biofloc ha servido como promotores de crecimiento y para mejorar la digestión de los nutrientes de los organismos en cultivo (KUEHNE, 2018).

Liu (2017) realizaron un estudio en tilapia en el cual evaluaron el efecto de *Bacillus subtilis* en la mejora del crecimiento y la actividad de enzimas digestivas, encontrando que el suministro de *B. subtilis* incrementa significativamente la actividad de proteasas, debido a que secreta exoenzimas mejorando así la actividad enzimática del tracto digestivo. Caso similar a lo observado en el presente estudio donde los tratamientos adicionados con probióticos (D1BP y D2BP) presentaron niveles mayores de proteasas, presentando la mayor actividad el tratamiento D2BP (458.18 + 94.78 U/mg de proteína) presentando un efecto combinado tanto por la densidad de cultivo como por el tipo de sistema. En un estudio similar en carpa común, se encontró que la adición de bacterias *Bacillus sp.* incrementa significativamente la actividad de proteasas, mejorando la digestibilidad del alimento por las carpas (Yanbo y Zirong 2006). Najdegerami *et al.*, (2016) en un estudio en carpa común (*Cyprinus carpio*) cultivada en sistema biofloc, encontraron que los flóculos microbianos estimularon la actividad de las enzimas digestivas (proteasas), resultando en una mejor digestión de los nutrientes en el intestino, obteniéndose un mejor crecimiento y una mejor utilización del alimento. Lo cual es similar a lo obtenido en este estudio, para los tratamientos D1B y D2B, presentando la mayor actividad el tratamiento D2B (210.77 + 124.94 U/mg de proteína).

El mejor crecimiento se presentó en el tratamiento D1BP (56.83 ± 3.48 g) y D2BP (43.79 ± 3.69) y la actividad de tripsina y quimotripsina fue significativamente mayor en dichos tratamientos, siendo mejor el tratamiento D2BP. Probablemente este aumento en la actividad enzimática reforzó una mejor digestión y absorción de las proteínas presentes en el alimento y el biofloc. Por su parte la baja actividad en los tratamientos D1C y D2C nos sugiere que los microorganismos presentes en los probióticos no se mantuvieron dentro del sistema digestivo. Sin embargo se puede observar que la utilización de probióticos de manera constante aumente considerablemente la actividad de proteasas.

Lipasa

La digestión de lípidos ocurre en los ciegos pilóricos y en el intestino por una variedad de lipasas y colipasas. Los lípidos de las dietas, principalmente en forma de triglicéridos, son hidrolizados por lipasas inespecíficas en ácidos grasos libres y glicerol, que al ser absorbidos son usados para procesos biosintéticos de varios componentes celulares o para la obtención de energía (Maravi, 2017). Los sistemas de biofloc y los probióticos presentan un efecto positivo sobre los procesos digestivos en los organismos acuáticos. Se ha descrito que ciertas bacterias pueden participar en los procesos digestivos en peces y son capaces de producir exoenzimas como lipasas (Vand *et al.*, 2014). Algunas investigaciones han evaluado el efecto de los sistemas de biofloc y la inclusión de probióticos en la actividad enzimática digestivas de los organismos acuáticos.

Essa *et al.*, (2010) evaluaron el efecto de la suministración de probióticos en la actividad de enzimas digestivas de tilapia, encontrando la actividad de la enzima lipasa aumento con el suministro de probióticos a la dieta lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio don los tratamientos con probióticos (D1BP y D2BP) mostraron mayor actividad de dicha enzima, siendo significativamente mayor el tratamiento D2BP (9.62 + 1.63 mU/mg de proteína). En otro estudio Long *et al.*, (2015) evaluaron el efecto de la tecnología biofloc en la actividad de enzimas digestivas en hígado e intestino, los cuales encontraron que el tratamiento con biofloc presento un efecto estimulante sobre la actividad de la lipasa, mencionando que esta puede facilitar la digestión y la utilización de lípidos y una contribución en la mejora del rendimiento y crecimiento de la tilapia, los valores obtenidos fueron significativamente mayores a los del presente estudio. Liu *et al.*, (2018) evaluaron el efecto de la densidad de cultivo en la actividad de enzimas digestivas de la tilapia en un sistema de biofloc en agua dulce, los cuales mencionan que un aumento en la densidad de cultivo presentan un efecto negativo en la actividad de la enzima lipasa, los tratamientos control y de alta densidad las actividad se mostro deprimida. Es posible que la alta densidad puede perjudicar la digestión y la utilización del alimento sin embargo dichos resultados difieren con los del presente estudio ya que la actividad de la lipasa fue significativamente mayor en el tratamiento de alta densidad con inclusión de probióticos (D2BP), aunque los valores obtenidos por ellos fueron mayores que los de este estudio, sin embargo dicho estudio se realizo en agua dulce caso contrario a nuestro estudio que se realizo en agua marina.

Leucina Aminopeptidasa

Las leucinas aminopeptidasas son enzimas proteolíticas que catalizan la hidrólisis de los restos aminoacídicos en el extremo amino de los péptidos y proteínas y están presentes en los bordes de cepillo intestinal. Las LAP no solo desempeñan un papel importante en el mantenimiento del balance del nitrógeno, energía para el metabolismo, concentración de glucosa en la sangre, producción de hormonas de crecimiento y concentración de hemoglobina, sino que además promueve la síntesis de proteínas, por lo que una deficiencia de esta enzima en el organismo, podría generar malfuncionamiento metabólico y reducir el crecimiento en los organismos (KUEHNE, 2018). En el presente estudio, la actividad de la enzima leucina aminopeptidasa se miro favorecida por la inclusión de probióticos, presentando la mayor actividad el tratamiento D2BP. El aumento en peso se encuentra relacionado con una mayor actividad de las enzimas digestivas entre ellas leucina aminopeptidasa, se puede observar en el presente estudio que los tratamientos D1BP y D2BP presentaron los mejores crecimientos, independientemente de la densidad de cultivo, los cuales presentaron la mayor actividad de esta enzima. Ferreira *et al.*, (2016) evaluaron la actividad de leucina aminopeptidasa en un cultivo de tilapia en un sistema de cajas y de estanques, encontrando que las tilapias en sistema de cajas presentaron mayor actividad para la enzima leucina aminopeptidasa que el cultivo en estanque. Esto quiere decir que los niveles de actividad enzimática pueden variar significativamente entre sistemas, lo cual concuerda con los resultados del presente estudio ya que la actividad de esta enzima vario dependiendo del tipo de sistema utilizado siendo significativamente mayor en el tratamiento D2BP.

Amilasa

La α -amilasa digestiva ha sido localizada en todo el tracto digestivo de muchas especies de peces, pero poco se sabe sobre la regulación de la actividad de amilasa, su secreción o biosíntesis en peces. Se conoce que la actividad amilásica de tejidos y de contenido intestinal varía entre las especies siendo mayor en peces herbívoros y omnívoros que en carnívoros. Un aumento de la producción de amilasas puede ocurrir en respuesta a la presencia de carbohidratos o de sus productos de hidrólisis en el tracto gastrointestinal (Maravi, 2017). En el presente estudio la actividad específica de la amilasa fue significativamente mayor en el tratamiento D2BP que en el resto de los tratamientos, lo cual nos indica que como en el resto de las enzimas analizadas, la utilización de probióticos en el sistema promueve un efecto positivo en el incremento de la actividad de amilasa, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Sankar *et al.*, (2017) y Vand *et al.*, (2014) los cuales encontraron que la suplementación de probióticos comerciales mejora significativamente la actividad de amilasa, de manera similar Liu *et al.*, (2017) encontraron que la suplementación de *Bacillus subtilis* promueve un aumento en la actividad de esta enzima. Por otra parte se ha evaluado el efecto de la salinidad en la actividad enzimática digestivas de tilapia como lo descrito por Sandoval *et al.*, (2012) los cuales mencionan que la actividad del tipo α -amilasa, se observa una tendencia a disminuir a medida que se incrementó la salinidad, encontrándose una actividad de $0.27 \pm 0,00$ U/mg de proteína a 35 ‰, dicho resultado es similar al obtenido en el presente trabajo para el tratamiento D2BP, pero diferente para el resto de los tratamientos. Xu *et al.*, (2012), realizaron un análisis enzimático de los flóculos encontrando que éstos exhibieron acción de amilasas, lo cual indicaría que los microorganismos residentes en los flóculos producirían estas enzimas, las cuales podrían ser liberadas en el tracto digestivo del organismo en cultivo y aumentar la actividad de esta misma. Por otra parte Long *et al.*, (2015) encontraron valores significativamente mayores de actividad de amilasas en el intestino de la tilapia cultivada en biofloc, lo atribuyen a una actividad relativamente alta de amilasas extracelulares encontradas en los flóculos. Por lo cual la combinación de probióticos con los sistemas de biofloc propicia un efecto positivo en la actividad enzimática digestiva, como lo visto en el presente estudio.

CONCLUSIONES

- El uso de los sistemas de biofloc en el cultivo de tilapia contribuyen positivamente en la actividad enzimática digestiva.
- La utilización de probióticos mejora la actividad enzimática digestiva. Mostrando diferencias significativas los tratamientos en los cuales se incluyeron.
- El uso de los sistemas de biofloc en combinación con probióticos, promueve la actividad de enzimas digestivas tanto exógenas como endógenas, por lo cual los organismos cultivados bajo este tipo de sistemas aprovechan de mejor manera los nutrientes suministrados.
- La utilización de probióticos y biofloc en el cultivo de tilapia en agua salada es factible, debido a que ayudan a contrarrestar los efectos negativos de la salinidad.

LITERATURA CITADA

- Anson, M. L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of general physiology*, 22(1), 79-89
- Avnimelech Y & Kochba M. (2009). Evaluation of nitrogen uptake and excretion by tilapia in biofloc tanks, using 15 N tracing. *Aquaculture*, 287(1), 163-168.
- Carlos Martínez Palacios, L.G. Ross, Ma. Gisela Ríos Duran & Cristian Martínez Chávez (2017). Digestión y metabolismo en peces. En Armando Shimada Miyasaka, *Nutrición animal* (pp.137-154). México: Editorial trillas.

De Azevedo, R. V., de Oliveira, K. F., Flores-Lopes, F., Teixeira-Lanna, E. A., Takishita, S. S., & Tavares-Braga, L. G. (2015). Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity/Respuestas de la tilapia del Nilo a diferentes niveles de salinidad del agua. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 43(5), 828-835

Erlanger, B. F., Kokowsky, N., & Cohen, W. (1961). The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 95(2), 271-278.

- Essa, M. A., El-Serafy, S. S., El-Ezabi, M. M., Daboor, S. M., Esmael, N. A., & Lall, S. P. (2010). Effect of different dietary probiotics on growth, feed utilization and digestive enzymes activities of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the Arabian Aquaculture Society*, 5(2), 143-162.
- Ferreira, J., Karollina, S., Siqueira, L., Rodrigo, C., Assis, D., Augusto, C., Souza, R. (2016). Digestive enzyme activity in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under pond and cage farming systems. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(5), 1259-1274.

Gjellesvik, D. R., Lombardo, D., & Walther, B. T. (1992). Pancreatic bile salt dependent lipase from cod (*Gadus morhua*): purification and properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1124(2), 123-134.

- Jesús-Ramirez, F., Álvarez-González, C. A., Nolasco-Soria, H. G., Peña, E., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., & Pohlenz, C. (2017). Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (*Centropomus parallelus*). *Hidrobiológica*, 27(3), 419-427.
- KUEHNE, V. N. M. (2018). Contribución del biofloc inoculado con diferentes probiótico sobre el crecimiento y niveles de actividad enzimática digestiva en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus* Var SPRING).

Kunitz, M., 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor: II. General properties. *J. Gen. Physiol.* 30, 291–310.

Liu, G., Ye, Z., Liu, D., Zhao, J., Sivaramasamy, E., Deng, Y., & Zhu, S. (2018). Influence of stocking density on growth, digestive enzyme activities, immune responses, antioxidant of *Oreochromis niloticus* fingerlings in biofloc systems. *Fish & shellfish immunology*, 81, 416-422.

Liu, H., Wang, S., Cai, Y., Guo, X., Cao, Z., Zhang, Y., & Xie, Z. (2017). Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & shellfish immunology*, 60, 326-333.

- Long, L., Yang, J., Li, Y., Guan, C., & Wu, F. (2015). Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 448, 135-141.

Maravi Aguilar, R. M. (2017). Influencia del sistema biofloc sobre la actividad enzimática digestiva y los parámetros productivos de juveniles de paiche (*Arapaima gigas*).

Moyano, F. J. (2006). Bioquímica digestiva en especies acuicultivadas: Aplicaciones en nutrición. *VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mazatlan, Sinaloa*, 15-17.

- Najdegerami, E. H., Bakhshi, F., & Lakani, F. B. (2016). Effects of biofloc on growth performance, digestive enzyme activities and liver histology of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings in zero-water exchange system. *Fish physiology and biochemistry*, 42(2), 457-465.

Sandoval-Muy, M. I., Guereña-Araiza, M. A., Miranda-Baeza, A., & Rivas-Vega, M. E. (2012). METABOLISMO DE RUTINA Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA EN JUVENILES DE TILAPIA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) ACLIMATADA A DIFERENTES SALINIDADES. *Biotecnia*, 14(2), 11-17.

- Sankar, H., Philip, B., Philip, R., & Singh, I. S. B. (2017). Effect of probiotics on digestive enzyme activities and growth of cichlids, *Etroplus suratensis* (Pearl spot) and *Oreochromis mossambicus* (Tilapia). *Aquaculture Nutrition*, 23(4), 852-864.
- Vand, Z. D. A., Alishahi, M., & Tabande, M. R. (2014). Effects of different levels of *Lactobacillus casei* as probiotic on growth performance and digestive enzymes activity of *Barbus grypus*. *International Journal of Biosciences*, 4(7), 106-116.

Walter, H.E., 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. Ed. , *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. V. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 270–277.

Watanabe T. (2002). Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science*, 68(2), 242-252.

Xu, WJ; Pan, LQ; Sun, XH; Huang, J. 2012 a. Effects of bioflocs water quality, and survival, growth and digestive enzyme activities of *Litopenaeus vannamei* (Bonne) in zero exchange culture tanks. *Aquaculture Research*. 1-10.

Xu, WJ; Pan, LQ; Zhao, DH; Huang, J. 2012. Preliminary investigation into the contribution of floc on protein nutrition of *Litopenaeus vannamei* fed with different dietary protein levels in zero-water exchange culture tanks. *Aquaculture*. 350: 147-153.

- Yanbo, W., & Zirong, X. (2006). Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Animal feed science and technology*, 127(3-4), 283-292.

CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA IN SITU DE POBLACIONES DE MAÍCES NATIVOS EN CONCORDIA, SINALOA, MÉXICO.

Valeria Gómez-Pérez¹, Pedro Sánchez-Peña¹, Teresa de Jesús Velázquez-Alcaraz¹, Saúl Parra-Terraza¹, Orlando Omer Linares-Holguín¹, Libia Iris Trejo-Téllez².

Maestría en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía. shey_jc_kayra@hotmail.com,

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Montecillos, Estado de México

RESUMEN

Los estudios de caracterización *in situ* permiten conocer cómo se encuentra los recursos genéticos en los lugares donde éstos tienen su asentamiento, lo que permitiría establecer estrategias de aprovechamiento, conservación y mejoramiento. En este contexto, se caracterizó la variación agromorfológica *in situ* de 15 poblaciones de maíces nativos (*Zea mays*) de Concordia, Sinaloa, con la metodología de CIMMYT/IBPGR (1991), evaluando diez variables de características vegetativas, de espiga, mazorca y grano. Se aplicó un análisis de varianza entre poblaciones para cada una de las variables evaluadas y se encontraron diferencias significativas entre poblaciones, lo que se consideró como un indicador de diversidad en los maíces nativos. La población Jala reportó los promedios mayores para las siguientes variables: número de hojas bajo de la mazorca, altura de planta, altura de mazorca y longitud de mazorca (10.46 hojas, 377.62 cm, 199.96 cm y 21.7 cm, respectivamente); en hojas arriba de la mazorca, Chilero con 6.93 hojas. Asimismo las longitudes del pedúnculo de espiga y la espiga central fueron mayores en la población Colita (27.96 y 30.36 cm, respectivamente); en cambio la mayor longitud de parte ramificada se tuvo en Serrano Amarillo (16.57 cm). El mayor número de espiguillas y el ancho más grande de grano se registró en la población Pozolero (20.53 espiguillas y 142.8 mm). De todas las poblaciones, Jala fue la que presentó los promedios más altos en seis de las diez variables evaluadas y Huesito las medias más bajas en seis de las diez variables. Se confirmó la existencia de riqueza genética en los maíces nativos y la variación encontrada está en concordancia con los resultados reportados en estudios previos.

Palabras claves: *Maíces nativos, caracterización in situ, recursos genéticos, diversidad*

ABSTRACT

In situ characterization studies allow to know how the genetic resources are found in the places where they have their origin, which can enable strategies of exploitation, conservation and improvement. In this context, the agro-morphological variation *in situ* of 15 local landrace populations (*Zea mays* L.) from Concordia, Sinaloa, Mexico, was characterized by using CIMMYT/IBPGR methodology (1991), evaluating ten variables of vegetative characteristics, of spike, ear and grain. An analysis of variance was applied among the populations for each of the evaluated variables and significant differences were found among population, which

was considered as an indicator of the diversity in native landrace populations. The Jala population reported the highest averages for the following variables: number of leaves under the ear, height of plant, height and length of ear (10.46 leaves, 377.62 cm, 199.96 cm and 21.7 cm, respectively); in the number of leaves above the ear, Chilero had the biggest amount with 6.93 leaves. Also the lengths of the spike peduncle and the central spike were larger in the Colita population (27.96 and 30.36 cm respectively); however, the greater length of branched part was in Serrano Amarillo (16.57 cm). The highest number of spikelets and the largest grain width were recorded in the Pozolero population (20.53 spikelets and 142.8 mm). Of all populations evaluated, Jala was the one that presented the highest averages in six of the ten variables evaluated and Huesito the lowest averages in six of the ten variables. The existence of genetic wealth in native landrace population was confirmed and the variation found agrees with the results reported in previous studies.

Keywords: *Native maize, characterization in situ, diversity, genetic resources*

INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de maíz es de gran importancia, no sólo por ser centro de origen; sino también, porque constituye parte de la dieta alimenticia de la población (Kato *et al.*, 2009). Desde su domesticación a la fecha, la variación generada en los maíces mexicanos es producto de las condiciones de los numerosos nichos ecológicos en los que se ha venido cultivando en el país y de las selecciones realizadas por los campesinos en función de sus necesidades (Muñoz *et al.*, 2003). En el estado de Sinaloa a pesar de los altos rendimientos en el cultivo de maíz, poco se conoce de los maíces nativos que se encuentran en las áreas de temporal y que albergan parte de la riqueza de la variación presente en el territorio nacional (Sánchez *et al.*, 2008), Palacios *et al.* (2008), encontraron variación agromorfológica en 152 colectas de maíces nativos colectados en 15 de los 18 municipios de Sinaloa; sin embargo, también observaron que algunas razas reportadas para el estado están prácticamente desaparecidas. Por su parte Morales (2012), en un estudio de caracterización fenotípica de 21 poblaciones de maíces nativos y/o criollos en condiciones de temporal para Sinaloa, confirmó variación fenotípica en los maíces y la presencia de las dos razas reportadas como desaparecidas por Palacios *et al.* (2008). La conservación *in situ* de las plantas permite la continuidad de los procesos de adaptación genética en las poblaciones locales cultivadas por los productores (Dzib *et al.*, 2016). Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre maíces nativos, se realizan fuera del ambiente donde éstos se desarrollan (*ex situ*) y en ellos se estudian la variación para múltiples características (Hortelano *et al.*, 2008). De acuerdo con Serratos (2012), esto podría no reflejar el comportamiento de las poblaciones en los lugares donde tienen su asentamiento (*in situ*). Por lo que, investigaciones que tengan como propósito conocer cuál es la variación que tienen los maíces nativos en los lugares donde éstos se cultivan, no sólo reflejaría la situación real de este recurso, sino que también, contribuirían a conocer la potencialidad de las poblaciones para futuros trabajos de mejoramiento genético; así como, para definir estrategias de conservación de la diversidad de maíz en México (Serratos, 2012); por ende, la caracterización, conservación, mejoramiento y producción de este recurso, debe ser

considerado como un aspecto de seguridad nacional (Serratos, 2009). El objetivo de este trabajo fue caracterizar la variación agro-morfológica *in situ* de las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mayoría de los estudios sobre maíces nativos, se realizan fuera del ambiente donde éstos se desarrollan (*ex situ*) y en ellos se estudian la variación para múltiples características, esto podría no reflejar el comportamiento de las poblaciones en los lugares donde tienen su asentamiento (*in situ*) y por ende no refleja la situación real de este recurso genético.

HIPÓTESIS

Existe variación agromorfológica *in situ* en las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la variación agromorfológica *in situ* de las poblaciones de maíces nativos de Concordia, Sinaloa, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Colectar poblaciones de maíces nativos en el municipio de Concordia, Sinaloa.
2. Evaluar el comportamiento de poblaciones de maíces en el municipio de Concordia, Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 15 poblaciones de maíces nativos: Blando de Sonora (BLA), Breve San Juan (BSJ), Burrito (BUR), Cascaringa (CAS), Chapalote (CHA), Chilero (CHI), Chino (CHN), Colita (COL), Enano (ENA), Huesito (HUE), Jala (JAL), Pepitilla (PEP), Pozolero (POS), Serrano Amarillo (SEA) y Zorrita (ZOR), colectadas en la zona serrana de la comunidad El Purgatorio del municipio de Concordia, localizado al sur del estado de Sinaloa, a 23° 17' 18" N, 106° 4' 3" W, y una altitud promedio de 478 m; su clima predominante es cálido subhúmedo con lluvias principalmente en verano; presenta una temperatura media anual de 24°C (INEGI, 2016). En la parcela donde estaba ubicada cada población, se seleccionaron aleatoriamente 30 plantas con competencia completa. La caracterización de las 15 poblaciones se realizó en condiciones de temporal en un estudio observacional durante todo el ciclo del cultivo (junio del 2017 a diciembre 2017). Diez variables respuestas fueron evaluadas; éstas fueron divididas en cuatro categorías: a) variables vegetativas, en la que se incluyen, altura de planta y de mazorca, número de hojas arriba y bajo de la mazorca; b) variables de espiga, como longitudes de espiga, de pedúnculo de la espiga, de espiga central, de la parte ramificada de la espiga y el número de espiguillas; c) variables de mazorca, en las que se encuentran, longitudes de la mazorca y del pedúnculo de la mazorca

, número de hileras, pesos y diámetros de mazorca y olote; d) variables de grano, como grosor, ancho y longitud de 10 granos, volumen y peso de 100 granos. Todas estas variables se tomaron de acuerdo con la metodología propuesta por CIMMYT/IBPGR (1991). La existencia o no de diferencias entre poblaciones en cada una de las variables estudiadas, se realizó mediante el modelo lineal general, donde se incluyó el efecto de las poblaciones y las medias de cada variable fueron comparadas con el método de Tukey con $\alpha \leq 0.05$ usando el programa SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre las 15 poblaciones para la totalidad de variables estudiadas; sin embargo, solamente se presentan resultados para diez variables estudiada (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios para poblaciones y error, así como la significancia estadística ($P \leq 0.05$) para población en las diez variables evaluadas de los caracteres vegetativos, espiga, mazorca y grano en el estudio de caracterización agromorfológica en maíces nativos de Concordia.

Variable respuesta	Cuadrados medios	
	Población	Error
Caracteres vegetativos		
Altura de mazorca (cm)	16744**	534
Altura de la planta (cm)	29999**	918
Número de hojas arriba de la mazorca	6.55**	0.50
Número de hojas bajo la mazorca	6.558**	0.509
Caracteres de espiga		
* = $P \leq 0.05$, ** = $P \leq 0.01$		
Longitud del pedúnculo de la espiga (cm)	796.5**	24.6
Longitud de la parte ramificada de la espiga (cm)	90.1**	10.6
Longitud de espiga (cm)	194.1**	19.4
Número de espiguillas	168.3**	18.5
Caracteres de mazorca		
Longitud de mazorca	205.561**	6.299

Caracteres de grano

Ancho de grano

7002.11**

103.24

Al analizar el comportamiento de la poblaciones en cada variable, se encontró que para la categoría vegetativa, respecto a altura de mazorca (Figura 1A), la altura de planta (Figura 1B), el número de hojas bajo la mazorca (Figura 1G) y longitud de mazorca (Figura 1E), la población Jala presentó los mayores promedios (199.96 cm, 377.62 cm, 10.46 hojas y 21.7 cm, respectivamente); mientras que, en la variable número de hojas arriba de la mazorca (Figura 1F), la población Chilero con 6.93 hojas fue la del promedio más alto. Al respecto, en las variables longitud del pedúnculo de la espiga (Figura 1C) y longitud de espiga central (Figura 1I), la población Colita presentó los mayores promedios (30.36 cm y 27.96 cm, respectivamente), y en la variable longitud de la parte ramificada de la espiga (Figura 1D), la población Serrano amarillo (16.57 cm), mientras que en número de espiguillas (Figura 1H) y ancho de grano (Figura 1J), la población Pozolero (20.53 espiguillas y 142.8 mm, respectivamente) fue la de mayor promedio (Figura 1). Las diferencias entre las variables vegetativas, espiga, mazorca y grano evaluadas en las 15 poblaciones de maíces nativos de la comunidad El Purgatorio, Concordia, mostraron que en ellas se encuentra un acervo de genes que debe de ser conservado. Estos resultados están en concordancia con Hortelano *et al.* (2008), al encontrar diferencias significativas en el estudio de diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. Por otro lado, los resultados obtenidos, coinciden con los mostrados por Ángeles *et al.* (2010), al obtener diferencias significativas en la caracterización de maíces nativos en Molcaxac, Puebla. Asimismo, los resultados están en correspondencia con los realizados por Contreras *et al.* (2016), que caracterizaron morfológicamente a 81 materiales nativos de la Sierra Nororiental de Puebla y encontraron una alta variación entre las poblaciones estudiadas, respecto a los caracteres aquí mostrados.

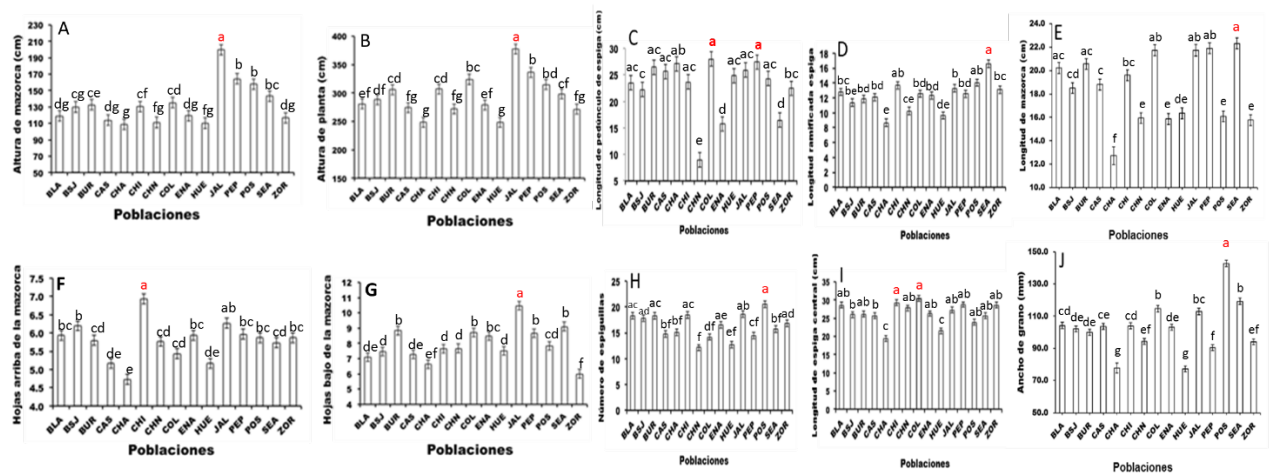


Figura 1. Comparación de medias de altura de mazorca (A), altura de planta (B), longitud del pedúnculo de la espiga (C), longitud ramificada de la espiga (D), longitud de mazorca (E), número de hojas arriba de la mazorca (F), número de hojas bajo la mazorca (G), número de espiguillas (H), longitud de la espiga central (I) y ancho de grano (J). Medias + EE con letras distintas en cada medición indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) entre poblaciones.

CONCLUSIONES

Tomando en consideración las poblaciones, las variables respuestas evaluadas y las limitantes en las que se realizó el estudio, se puede destacar que la caracterización agromorfológica *in situ* confirma la existencia de variabilidad para dichas poblaciones respecto a las variables reportadas. La población más sobresaliente fue Jala, ya que ésta, presentó los mayores promedios en 6 de las 10 variables evaluadas y la menos sobresaliente fue Huesito, ya que presentó los promedios más bajos en 6 de las 10 variables evaluadas.

LITERATURA CITADA

- Ángeles-Gaspar E., Ortiz-Torres E., López P., López-Romero G. 2010. Caracterización y rendimiento de poblaciones de maíz nativas de Molcaxac, Puebla. *Rev. Fitotec. Mex.* 33 (4): 287-296
- CIMMYT/IBPGR. 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources. Rome 3-28. http://archive-ecpgr.cgiar.org/fileadmin/biodiversity/publications/pdfs/104_Descriptors_for_maize.Descriptors_para_maiz.Descripteurs_pour_le_mais-cache=1415188810
- Contreras-Molinas O., Gil-Muñoz A., López A., Reyes-López D, Guerrero-Rodríguez J. 2016 Caracterización Morfológica de Maíces Nativos de la Sierra Nororiental de Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 17: 3633-3647
- Dzib-Aguilar L. A., Ortega-Paczka R., Segura-Correa J.C. 2016. Conservación *in situ* y Mejoramiento Participativo de maíces criollos en la Península de Yucatán. *Tropica and Subtropical Agroecosystems* 19: 51-59
- Hortelano S. R., Muños G., Santacruz V. A., Miranda C.S., Córdova T. L. 2008. Diversidad morfológica de maíces nativos del Valle de Puebla. *Agric. Téc. Méx.* 34 (2): 189-200
- INEGI. 2016. Síntesis geográfica, nomenclátor y anexo cartográfico del estado de Sinaloa. Recuperado de <http://www.inegi.org.mx> (Consulta, febrero 2018).
- Kato Y.T. A., Mapes S.C., Mera O. L. M., Serratos H. J. A., Bye B. R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México

Morales F. M. L. 2012. Caracterización fenotípica de 21 poblaciones de maíces nativos y/o criollos, en condiciones de temporal de Sinaloa Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa: 87-99

Muñoz A., Cueva, J., Santacruz V. A., Olvera I., Taboada E. 2001. Diversidad del maíz en los nichos ecológicos y culturales de México. Universidad Autónoma Chapingo, Programa Nal. Etnobotánica Agroecosistemas (5): 36.

Ortega P.R. 2003. La diversidad de maíz en México. En: Gustavo E. y Catherine M. (coordinadores). Sin maíz no hay país, CONACULTA, Dirección General de Culturas Populares, Museo de Culturas Populares, México <https://es.scribd.com/document/116425663/Sin-maiz-no-hay-pais-Gustavo-Esteva-y-Catherine-Marielle-Coordinadores>

Palacios V. O., Ortega C. A., Guerrero H. M. de J., Hernández C. J. de M., Peinado F. L. A. 2008. Proyecto FZ002. Conocimiento de la diversidad y distribución actual del maíz nativo y sus parientes silvestres en México. Componente 1: Diversidad y distribución actual de los maíces nativos

https://www.Biodiversidad.gob.mx/genes/proyecto/Anexo8_ResultadosProyectos/FZ002/Informe%20final/Maiz/Sinaloa/Informe%20Final_Sinaloa_FZ002

Sánchez-Peña P., López-Valenzuela J.A., Lugo-Melchor R., Leyva O.J. F., Hernández-Verdugo S., Cauich-Pech S. O., González-Galindo R., Villarreal-Romero M., Parra-Terraza S., Corrales-Madrid J. L., Sánchez-Peña J., Quintero-Arce J. R., Garzón-Tiznado J. A., Palacios-Velarde O., Armenta-Soto J. L. 2008. Variación fenotípica de maíces nativos del estado de Sinaloa, México. Trabajo presentado en el XI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, Mexicali, Baja California

SAS Institute. 2002. SAS/STAT User's Guide, Software version 9.0. Cary, N.C., USA

Serratos H. J. A. 2009. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México: Greenpeace. <http://www.greenpeace.org/mexico/Global/mexico/report/2009/3/el-origen-y-la-diversidad>

Serratos H. J. A. 2012. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. México: Greenpeace,

IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE *Theileria* spp Y *Babesia* spp EN PEQUEÑOS RUMIANTES EN CULIACÁN, SINALOA.

Lucila Guillermina Beltrán Vega ¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Jaime Eleazar Borbolla Ibarra¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Vicente Olimón Andalón².

Maestría en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Universidad Autónoma de Sinaloa.

²Facultad de Biología- Universidad Autónoma de Sinaloa.

lucilabeltran@uas.edu.mx

RESUMEN

El presente estudio tiene un diseño transversal, observacional y descriptivo, el objetivo es identificar genéticamente *Theileria* spp y *Babesia* Spp en ovinos y caprinos, la identificación será morfológica por microscopía óptica y posteriormente por la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Se obtuvieron un total de 46 muestras de sangre (34 ovinos y 12 caprinos) de tres sitios de Culiacán, hasta la fecha se han observado 8 muestras de sangre de ovinos dando tres muestras positivas a *Babesia* spp por microscopía óptica. Además se realizaron las extracciones de ADN del total de las muestras. Este será el primer reporte sobre la identificación genética de *Theileria* spp y *Babesia* spp en ovinos y caprinos de Culiacán, Sinaloa.

ABSTRAC

The present study has a transversal, observational and descriptive design, the objective is to genetically identify *Theileria* spp and *Babesia* spp in sheep and goats, the identification will be morphological by optical microscopy and later by the technique of Polymerase Chain Reaction (PCR). A total of 46 blood samples (34 sheep and 12 goats) were obtained from three sites in Culiacán. To date, 8 blood samples from sheep have been observed giving three positive samples to *Babesia* spp by light microscopy. In addition, the DNA extractions of the total samples were performed. This will be the first report on the genetic identification of *Theileria* spp and *Babesia* spp in sheep and goats from Culiacán, Sinaloa.

Palabras Clave: ovinos, caprinos, *Babesia* Spp, *Theileria* Spp. PCR, garrapata,

INTRODUCCIÓN

Los ovinos y caprinos son mamíferos rumiantes usados como ganado, son de importancia económica a través de productos como carne, leche, lana y piel, fuente de trabajo para familias campesinas en México, como importancia zootécnica estos mejoran los pastos, contribuyen al control de malezas, son fértiles y pueden tener más de una cría por parto (son prolíficos) y se adaptan a condiciones geográficas y climáticas adversas (Quittet. 1990). En México en el 2017 se produjo 2,861 ton. de carne de canal de ovinos y 1, 096 ton. de carne de canal de caprinos, de estas 132 ton. de carne de canal de caprinos y 111 de ton, de carne de canal en ovinos fue producida en el Estado de Sinaloa (INEGI, 2017) y en Culiacán según datos de SINIIGA (2018) las estadísticas de ovinos y caprinos son de 28, 260 y 13, 750

clasificados en vientres, crías, sementales, triponas y engorda. Existen enfermedades que afectan a ovinos y caprinos ocasionadas por parásitos, ectoparásitos y hemoparásitos, dentro de estos últimos tenemos *Theileria* spp y *Babesia* spp son géneros de parásitos protozoarios del grupo de *Apicomplexa* de la familia *piroplasmida* que causan theileriosis y babesiosis, enfermedades cuyo vector de transmisión es la garrapata con distribución en regiones tropicales, subtropicales y países con clima templado. Se han identificado varias especies de *Babesia* en diferentes partes del mundo infectando a ovinos y caprinos. En estudios realizados en el norte de Túnez (M'Ghirbi *et al.*, 2013), Noroeste de Irán (Esmailnejad *et al.*, 2014; Naderi *et al.*, 2017) identificaron a *Theileria ovis* en ovinos y caprinos, los grupos de investigadores de Ranjbar-Bahadori *et al.* (2012), Bazmani (2013) y Esmailnejad *et al.* (2015) identificaron *Babesia* spp y *Babesia ovis*, en China un grupo de investigadores detectaron *Babesia motasi* (Niu *et al.*, 2017), en el mismo año en Turquía se identificaron las especies de *Babesia ovis*, *Theileria ovis* y *Babesia sp.* en un estudio realizado por Ozubek y Aktas (2017). La elevada morbilidad y alta mortalidad de la theileriosis y babesiosis hacen que estos agentes sean responsables de elevadas pérdidas económicas en la industria ganadera de alrededor de 48 millones de dólares al año en el mundo (Meléndez, 1998) y en México se pierden 3, 587 mill. de pesos al año. Es así como la infecciones por *Theileria* spp y *Babesia* spp han sido reportados en distintos países como causantes de un gran impacto económico y de salud en los pequeños rumiantes (Friedhoff, 1997) y están ganando interés creciente como causa de zoonosis emergentes (Penzhorn, 2006). Estas enfermedades han sido estudiadas ampliamente en el ganado vacuno (M'Ghirbi *et al.* 2008); sin embargo, existe muy poca información sobre theileriosis y babesiosis en pequeños rumiantes. En Sinaloa, nuestro grupo de investigadores reportó hallazgos de la identificación morfológica de *Babesia* spp en ovinos y caprinos (datos por publicar), el objetivo del presente estudio es la identificación genética de *Theileria* spp y *Babesia* spp en ovinos y caprinos en Culiacán, Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Sinaloa se desconoce la presencia de *Theileria* y *Babesia* que afectan a ovinos y caprinos, cuyo vector de transmisión es la garrapata del género *Ripicephalus* (*Boophilus*), estos piroplasmas causan theileriosis y babesiosis patologías consideradas actualmente dentro de la lista de enfermedades zoonóticas emergentes.

HIPÓTESIS

Theileria spp y *Babesia* spp están presentes en ovinos y caprinos de Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVO GENERAL

Identificar genéticamente *Theileria* spp y *Babesia* spp en ovinos y caprinos de Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detección morfológica de *Babesia* spp en ovinos y caprinos.
- Detección morfológica de *Theileria* spp en ovinos y caprinos.
- Identificar la secuencia del gen de *Theileria* spp y *Babesia* spp en ovinos y caprinos.

- Identificar la secuencia del gen de *Theileria ovis* y *Babesia ovis* en ovinos y caprinos.

METODOLOGIA

Tipo de estudio

El abordaje para este estudio es **transversal, observacional, descriptivo y por conveniencia**.

Universo de estudio

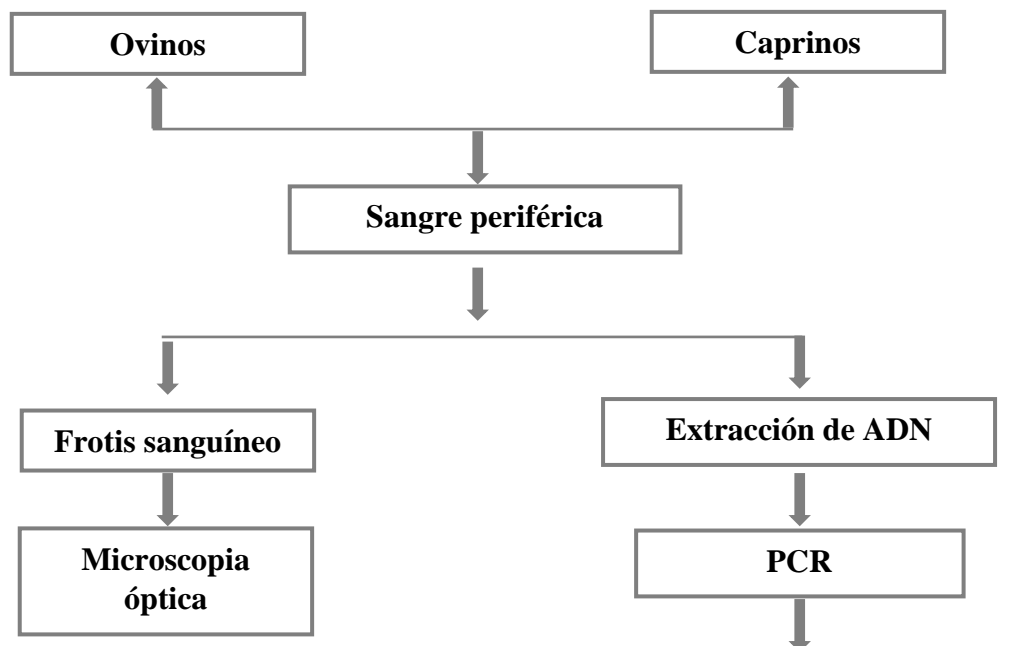
El presente estudio se realizó con 46 muestras de sangre de ovinos y caprinos en Culiacán Municipio del Estado de Sinaloa y su análisis se encuentra en proceso en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México; geográficamente ubicada entre los paralelos 24° 02' y 25° 17' de latitud norte; los meridianos 106° 52' y 107° 50' de longitud oeste; altitud entre 0 y 1 800 m, temperatura media anual de 18°C - 26°C, precipitación de 400-1200 mm, clima seco muy cálido y cálido (37.40%), semiseco muy cálido y cálido (31.96%), cálido subhúmedo con lluvias en verano (INEGI, 2016).

Las muestras de sangre de ovinos y caprinos se obtuvieron de 3 ranchos cooperantes de la Ciudad de Culiacán, Sinaloa, los tres sitios fueron: Ejido San Manuel con las coordenadas geográficas: 24.357222 latitud y -107.380556 longitud, Aguaruto con las coordenadas geográficas: 24.7885 latitud y 107.4861 longitud y El Campo las Ilusiones con las coordenadas geográficas 24.7187 latitud y -107.5413 longitud.

Criterios de selección

- **Criterios de inclusión**
 - Ovinos y caprinos, con y sin signos clínicos indistinto sexo, raza y edad.
- **Criterios de eliminación**
 - Muestra insuficiente
 - Degradación de la muestra

DIAGRAMA METODOLÓGICO



MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras sanguíneas

Las muestras sanguíneas se extrajeron de la vena yugular de ovinos y caprinos, se almacenaron a -20°C en el laboratorio de parasitología hasta su uso.

Detección morfológica

Después de la extracción se realizaron los frotis sanguíneos a cada muestra de sangre obtenida por la técnica de tinción de Wright (Koneman, 2012).

Extracción de ADN

El ADN se extrajo por medio de la técnica fenol-cloroformo, utilizando 300 μl de sangre completa de ovino y caprino, se agregó amortiguador de lisis (TE: tris 100 mM y EDTA 10mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubó a 37°C con calor seco y a 56°C a calor húmedo por una h respectivamente. Se agregó fenol (1:1), se centrifugó por dos min a 12,000 RPM, se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1), se centrifugó por dos min a 12,000 RPM se obtuvo el sobrenadante y se agregó etanol absoluto, se congeló a -20°C . Se centrifugó por 15 min, a 12,000 RPM y se decantó. A la pastilla obtenida se le agregó 50 μl de agua inyectable estéril (Green y Sambrook, 2012). El ADN se observó en gel de agarosa al 1% teñido con gel red con luz ultravioleta (Huang, 2010).

PCR

El material genético extraído formará parte de una mezcla de reacción para PCR a 25 μl (Buffer 10X MgCl_2 , dNTPs, H_2O inyectable estéril, Taq Polimerasa, oligonucleótidos y DNA), la reacción se llevará a cabo en un termociclador (BIORAD T100). Se amplificarán las regiones de los genes de *Babesia* spp 18S-rRNA: Forward (5'-GTCTTGTAATTGGAATGATGG-3') Reverse (5'-TAGTTT ATGGTT AGGACTACG-3') 472 pb, *Babesia ovis* 18S-rRNA: Forward (5'-TGGGCAGGACCTTGGTTCTTCT-3') Reverse (5'-CCGCGTAGCGCCGGCTAAATA3') 549 pb (Aktas *et al.*, 2005). *Theileria* spp 18S-rRNA: Forward (5'-AATCCTGACACAGGGAGGTAGTGAC-3') Reverse (5'-CTAAGAATTTACCTCTGACAGT-3') 390 pb (Ueti *et al.* 2015), *Theileria ovis* 18S-rRNA: Forward (5'-TCGA-GACCTTCGGGT-3') Reverse (5'-TCCGGACATTGTAACAAA-3') 520 pb (Altay *et al.*, 2005) por 38 ciclos, la temperatura de desnaturalización se utilizará a 95°C por 45s, la alineación a 60°C por 45 s y la extensión a 56°C por 30s, con una extensión final de 72°C por 10 min. Los productos de PCR se revelarán en geles de agarosa al 1% teñido con Gel Red y se visualizarán en un transluminador ultravioleta utilizando marcador de tamaño de pares de bases (Huang, 2010).

Secuenciación

Las secuencias de los genes 18S-rRNA de las especies de *Babesia* spp. *Babesia ovis*, *Theileria* spp y *Theileria ovis*, se enviarán a la empresa MACROGEN Inc. # 1001, 254 Beotkkot - ro, Geumcheon - gu, Seoul, South Korea <http://www.bionity.com/en/companies/16588/macrogen-inc.html>

Análisis In Silico

La Edición de las secuencias se llevará a cabo en los programas en línea BioEdit y OligoAnalyzer 3.1 <https://www.idtdna.com/calc/analyzer>. Las identidades de las secuencias se comprobarán en el programa en línea BLASTn https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch y el análisis filogenético se

realizará en MEGA 6. El árbol filogenético se realizará por el método NJ (Neighbor Joining) descrito por Saitou y Nei (1987).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han observado 8 muestras de sangre de ovinos donde 3 muestras fueron positivas a *Babesia* spp por microscopia óptica, como se observa en la figura 1. Los parásitos observados coinciden con el estudio de Naderi *et al.*, (2017) en ovinos de Irán.

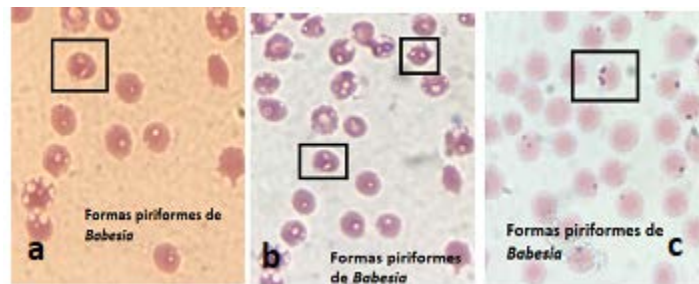


Figura 1. (a, b y c). Se observa *Babesia* spp intraeritrocitario en la muestras número 2,44 y 45.

Se obtuvo el ADN de las 46 muestras (34 ovinos y 12 caprinos) donde se observó ADN íntegro y sin degradación como se observa en la figura 2.

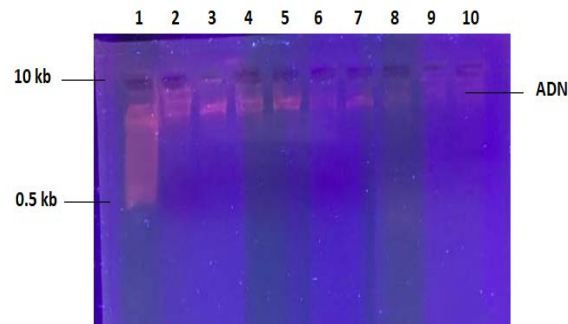


Figura 2. Gel de agarosa al 1 %, se observa en el carril 1 el marcador de 1 kb y del carril 2-10 se observa el ADN de sangre de ovinos

CONCLUSIONES

Babesia spp se encuentra presente en ovinos de Culiacán, Sinaloa.

LITERATURA CITADA

- Aktas M., Altay K., Dumanli N. 2005. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats. *Vet Parasitol* 133: 277–281. DOI: 10.1111/tbed.12139.
- Bazmani A. 2013. Identification of *Babesia* Species in Sheep Isolated from villages of East Azerbaijan by Semi-nested PCR. Vol. 7(1), p. 201-205.
DOI:https://www.researchgate.net/publication/288652238_Identification_of_Babesia_Species_in_Sheep_Isolated_from_Villages_of_East_Azerbaijan_by_Semi-nested_PCR.
- Esmailnejad B., Tavassoli M., Asri-Rezaei S., Dalir-Naghadeh B., Mardani K., Jalilzadeh-Amin G., Golabi M. & Arjmand J. 2014. PCR-Based Detection of *Babesia ovis* in *Rhipicephalus bursa* and Small Ruminants. *J Parasitol Res* 2014. 294704. DOI: 10.1155/2014/294704.
- Esmailnejad B., Tavassoli M., Asri-Rezaei S., Dalir-Naghadeh B., Mardani K., Golabi M., Arjmand J., Kazemnia A. & Jalilzadeh G. 2015. Determination of Prevalence and Risk Factors of Infection with *Babesia ovis* in Small Ruminants from West Azerbaijan Province, Iran by Polymerase Chain Reaction. *J Arthropod Borne Dis* 9: 246-52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0345-2>
- Friedhoff K, T. 1997. Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. *Parassitologia* 39: 39-109. DOI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9530692>
- Green R. M., Sambrook J. 2012. Molecular cloning. Laboratory manual. 4ta. Edition. Cold Spring Harbor, New York. P 2028 p. ISBN 9781936113422.
- Huang Q, Baum L, Fu WL, 2010. Simple and Practical Staining of DNA with GelRed in Agarosa Gel Electrophoresis. *Clin Lab* 56: 149 – 152. DOI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20476647>
- INEGI. 2016. Anuario estadístico y geográfico de Sinaloa 2016 / Instituto Nacional de Estadística y Geografía.-- México:INEGI, c2016. p 477. ISBN 978-607-739-976-6.
- INEGI 2013. El ganado ovino en México. Censo Agropecuario 2007. 2013. <https://www.inegi.org.mx/programas/amca/2016/default.html> (consultado el día 03 de marzo de 2019).
- M'ghirbi Y., Hurtado A., Barandika J. F., Khlif K., Ketata Z., Bouattour A. 2008. A molecular survey of *Theileria* and *Babesia* parasites in cattle, with a note on the distribution of ticks in Tunisia. *Parasitol Res* 103; 435-42. DOI: 10.1007/s00436-008-0995-3
- M'ghirbi Y., Ros-Garcia A., Iribar P., Rhaim A., Hurtado A., Bouattour A. 2013. A molecular study of tick-borne haemoprotozoan parasites (*Theileria* and *Babesia*) in small ruminants in Northern Tunisia. *Vet Parasitol*, 198, 72-7. DOI: 10.1016/j.vetpar.2013.08.005.
- Naderi A., Nayebzadeh H. & Gholami S. 2017. Detection of *Babesia* infection among human, goats and sheep using microscopic and molecular methods in the city of Kuhdasht in Lorestan Province, West of Iran. *J Parasit Dis* 41: 837-842. DOI: 10.1007/s12639-017-0899-1.

Niu Q., Liu Z., Yang J., Gao S., Pan Y., Guan G., Luo J., Yin H. 2017. Genetic characterization and molecular survey of *Babesia sp. Xinjiang* infection in small ruminants and *Ixodid* ticks in China. *Infect Genet Evol* 49: 330-335. DOI: 10.1016/j.meegid.2017.01.025.

Ozubek S., Aktas M. 2017. Molecular evidence of a new *Babesia sp.* in goats. *Vet Parasitol* 233, 1-8. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.11.016.

Penzhorn B. L. 2006. Babesiosis of wild carnivores and ungulates. *Vet Parasitol* 138: 11-21. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.01.036

Preston P.M., 2001. Theileriosis. In: Service, M.W. (Ed.), *The Encyclopedia of Arthropod-transmitted Infections*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 487–504. ISBN 0 85199 473 3.

Ranjbar-Bahadori S., Eckert B., Omidian Z., Shirazi N. S. & Shayan P. 2012. *Babesia ovis* as the main causative agent of sheep babesiosis in Iran. *Parasitol Res* 110: 1531-6. DOI: 10.1007/s00436-011-2658-z

SINIIGA. 2018. Estadísticas de ovinos y caprinos en Sinaloa. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>.

Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor – joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4: 406 – 425. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454

[Quittet](#) E., J. Delahaye. 1990. *La cabra: guía práctica para el ganadero*. Mundi-Prensa, p 318. ISBN: 8471140691, 9788471140692

Koneman E, W., Allen S, D., Winn, W. 2012. *Diagnóstico microbiológico*. 6a ed. México, DF: Editorial Médica Panamericana S.A. ISBN: 9786077743804

EVALUACIÓN ESPACIO TEMPORAL DE LA REMOCIÓN DE NUTRIENTES EN UN DREN URBANO CON VEGETACIÓN EN LA CD. DE MAZATLÁN, SINALOA.

Juan Eduardo Guzmán Ibarra ¹, Director de tesis: Dr. Otoniel Carranza Díaz², Asesores: Dra. Carmen Cristina Osuna Martínez², M.C. Iliana Hetzabet Zazueta Ojeda², M.C. María

Alejandra Medina Jasso², Dr. Víctor Manuel Luna Pabello³

Programa Maestría en ciencias en recursos acuáticos, ¹Facultad de Ciencias del Mar, UAS.

Email: juangzm94@gmail.com²Universidad Autónoma de Sinaloa – Facultad de Ciencias del Mar³Universidad Nacional Autónoma de México - Facultad de Química

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial existen una serie de problemas ambientales considerados como de alto impacto producto de la contaminación antropogénica, entre los que se enlistan la eutrofización de los ecosistemas acuáticos (Rockström *et al.* 2009). Este enriquecimiento de nutrientes es causado en gran parte debido al mal manejo de las aguas residuales agrícolas y urbanas ya que gran parte de estas aguas reciben poco o nulo tratamiento previo a su descarga. En México existen 2287 plantas de tratamiento de aguas residuales municipales en operación, de los 212.0 m³/s de aguas residuales generadas en el país solo el 57% es recolectado a través de los sistemas de alcantarillado municipal y solo el 20% de las aguas residuales que se generan en el país reciben algún tipo de tratamiento antes de ser vertidas en el ecosistema (CONAGUA, 2016). Sin embargo, los sistemas de drenaje pluvial los cuales transportan las escorrentías urbanas provenientes del lavado de calles y avenidas que arrastran todo tipo de contaminantes, son depositados directamente y sin ningún tipo de tratamiento en los cuerpos de agua receptores, siendo los ecosistemas costeros las zonas de mayor impacto, ya que en ellas se albergan casi el 80% de la población mundial (Escobar, 2002). Representando en este sentido una entrada puntual de nutrientes y contaminantes en general, lo que provoca un desequilibrio ecológico como parte del deterioro de la calidad del agua del sistema. A lo largo del tiempo se han hecho diferentes investigaciones para desarrollar alternativas de tratamiento de aguas residuales que operen a bajos costos. Una de las alternativas de mayor impacto es el uso de humedales artificiales, para los cuales se usan plantas macrófitas como componente principal de biorremediación (Díaz, O'Green y Dahlgren, 2012). Se ha reportado que estas plantas promueven una serie de procesos físicos, químicos y biológicos en la rizósfera que favorecen el crecimiento de microorganismos, mismos que contribuyen a la degradación de la materia orgánica y la transformación de los nutrientes a compuestos más simples, incrementando de esta forma los mecanismos de purificación del agua (Imfeld *et al.* 2009). Diversas investigaciones han aplicado estos conocimientos a sistemas de drenaje con vegetación, bajo la premisa de que las plantas que se establecen en los drenes mejoran la calidad del agua (Moore *et al.* 2011; Anderson *et al.* 2011; Flora y Kröger, 2014). Estas investigaciones se han realizado principalmente a las escorrentías transportadas en drenes agrícolas debido al aumento en el uso de fertilizantes y plaguicidas. Los resultados han reflejado que estos sistemas funcionan de manera similar a los humedales artificiales de flujo superficial y tienen la capacidad de remover diversos plaguicidas, fertilizantes y nutrientes de la columna de agua (Imfeld *et al.* 2009, Díaz, O'Green y Dahlgren, 2012). Sin embargo, la información disponible sobre el funcionamiento y beneficio ecológico de los

drenes urbanos con vegetación es escasa, por lo cual es necesario realizar estudios a mediano y largo plazo para conocer el funcionamiento de estos sistemas.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido al incremento de nutrientes de origen antropogénico en los ecosistemas costeros y a la falta de información continua a largo plazo sobre la variación de nutrientes, el daño y el funcionamiento ecológico de los drenes urbanos con vegetación, es necesario generar conocimientos que contribuyan a desarrollar estrategias de biorremediación para el mejoramiento de la calidad del agua de las escorrentías urbanas que se descargan en la zona costera. Por ello, nos planteamos las siguientes preguntas de investigación. ¿Cómo varía la remoción de nutrientes (NH_3 , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}) a lo largo del dren en un ciclo anual? ¿Qué nutrientes serán los de mayor y menor remoción? ¿En qué épocas del año ocurrirán las mayores remociones? ¿Qué relación tiene el crecimiento de las plantas con la remoción de nutrientes durante las diferentes épocas del año?

III. HIPÓTESIS

La remoción de nutrientes y el crecimiento de las plantas variarán tanto temporal como espacialmente entre épocas del año. El mayor crecimiento de vegetación ocurrirá en los meses más cálidos del año, y en consecuencia la mayor remoción de nutrientes ocurrirá en este mismo periodo de tiempo.

IV. OBJETIVOS

General:

Evaluar la variación espacio-temporal anual de la remoción de nutrientes (NH_3 , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}) en un dren urbano con vegetación en la ciudad de Mazatlán, Sinaloa.

Específicos:

- Determinar el flujo másico y remociones de los nutrientes seleccionados (NH_3 , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}) que pasan por la sección transversal en tres sitios de muestreo seleccionados a lo largo del dren y durante un periodo de un año.
- Calcular el crecimiento de *Typha* spp. en tres sitios de muestreo a lo largo del dren durante el tiempo de estudio.
- Determinar las variables fisicoquímicas pH, oxígeno disuelto, temperatura, salinidad, alcalinidad total, sólidos suspendidos totales y volátiles de cada sitio de muestreo.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación tendrá como área de estudio un dren urbano con vegetación, al cual hemos denominado por el nombre de “dren Atlántico”. Este dren se localiza en la ciudad de Mazatlán, Sinaloa. La temperatura media anual de la ciudad es de 24.8 °C. Los meses de mayor precipitación son Julio, Agosto y Septiembre con promedios de 175.8 mm, 246.5 mm y 261.1 mm respectivamente (INEGI, 2017). Este dren es de tipo pluvial y su función es

transportar las escorrentías que se generen en las zonas aledañas, así como evitar las inundaciones en los periodos de lluvias. Su estructura está hecha a base de concreto y tiene una longitud total de aproximadamente de 1.2 km. El ecosistema receptor de las aguas residuales que transporta son las aguas marinas de la bahía de Mazatlán. La selección del área de estudio se llevó a cabo tomando en cuenta las experiencias de investigaciones previas en el dren Atlántico y en base a las características que lo han hecho idóneo para su investigación, las cuales se mencionan a continuación: (1) Vegetación bien establecida dentro del dren, donde la macrófita *Typha* spp. representa la vegetación dominante con una cobertura del área superficial del dren del 90% aproximadamente. (2) Mantenimientos periódicos (poda de las plantas), la vegetación dentro y fuera del dren es removida. (3) Flujo constante de agua, dentro del dren lo cual permite el establecimiento de la vegetación.

Las campañas de muestreo se llevarán a cabo mensualmente durante el ciclo anual 2018 – 2019. Los sitios de muestreo fueron seleccionados de tal manera que sea posible comprender la distribución de los diferentes parámetros a evaluar, desde la entrada hacia la salida del sistema. A lo largo del dren Atlántico se establecieron cuatro sitios de muestreo, en donde se tomaran muestras de agua (50 ml) por ambos lados del dren utilizando un instrumento de PVC construido para tal propósito. El sitio de muestreo cuatro representa la entrada principal de agua dentro del dren Atlántico, en él se encuentra una descarga puntual de aguas residuales, siendo la fuente principal de agua con un flujo constante. Los sitios aguas abajo tres y dos representan la sección media del dren, mientras que el sitio uno representa la salida del dren para esta investigación. Cabe mencionar que a lo largo del dren se encuentran diversas entradas intermitentes para captar las escorrentías urbanas, mismas que tienen influencia en la cantidad de agua que ingresa al dren, principalmente en los periodos de lluvias. Una vez recolectada la muestra de agua, se tomara in situ los parámetros ambientales temperatura (°C) y pH. Posteriormente las muestras se almacenaran a bajas temperaturas y se trasladaran al laboratorio para su posterior análisis. Donde se analizaran los diferentes parámetros a cada una de las muestras simples de agua, salinidad, oxígeno disuelto, alcalinidad total, sólidos suspendidos totales y volátiles. Para la determinación de salinidad se utilizará un refractómetro digital HANNA HI 96822. Para el oxígeno disuelto se utilizara un instrumento PreSens® Microx TX3 (Limite de detección: 1 µg/L). La alcalinidad total se determinara mediante el kit estandarizado de alcalinidad HANNA HI3811 (titulación con ácido clorhídrico). Los sólidos suspendidos totales y volátiles se determinaran utilizando lo descrito en los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales (APHA, AWWA, WEF, 2012). Para determinar la concentración de nutrientes, se llevará a cabo mediante muestras compuestas, utilizando las dos muestras simples tomadas una a cada lado del dren en un mismo sitio de muestreo. Se analizaran los nutrientes; nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-), nitrógeno amoniacal (NH_3) y fosfatos (PO_4^{3-}) empleando un fotómetro HANNA HI 83203 (HANNA Instruments Inc. Smithfield).

El crecimiento de las plantas se determinará utilizando un estadal de 7 m (Fig. 3). Para registrar la altura de *Typha* spp. se tomaron fotografías al estadal dentro del dren utilizando una cámara profesional CANON EOS 1000D con un lente EFS 18-55 mm. Las fotografías serán tomadas en sentido diagonal a una distancia de 6 metros aproximadamente de tal

forma que se pudiera contrastar la medición del estado con la altura de las plantas en esa sección.

Para calcular el flujo másico que transporta el dren Atlántico emplearemos las siguientes fórmulas.

$$q = cQ$$

Dónde

q = Flujo másico expresado en unidades de masa por unidad de tiempo (g/d)

c = Concentración de nutriente (mg/L)

Q = Flujo volumétrico o caudal expresado en m³/s

Para la medición del caudal se emplearán diferentes métodos para determinar cuál responde mejor a nuestras necesidades, ya que debido a la alta cobertura de vegetación dentro del dren y otros objetos obstáculo dificultan una medición precisa aumentando los errores de cálculo, los métodos se mencionan a continuación: Mediante la aplicación móvil "Discharge" versión 1.71, Mediante la técnica de aforo con flotadores, Uso de vertedor.

- Para calcular la remoción de nutrientes en el dren Atlántico, se aplicó la siguiente fórmula:

$$Rem(\%) = \frac{C_i Q_i - C_f Q_f}{C_i Q_f} \times 100$$

Dónde: C_i = Concentración inicial, C_f = Concentración final, Q_i = Caudal inicial, Q_f = Caudal final

Para el análisis estadístico se realizarán pruebas de normalidad para seleccionar la prueba estadística más adecuada. Y aplicar pruebas de comparación de medias de los valores de las concentraciones de nutrientes, así como, entre el crecimiento de las plantas por las diferentes épocas del año. Valores $p < 0.05$ serán considerados estadísticamente significativos. Los cálculos se realizarán empleando el software Excel® y MATLAB®.

VI. LITERATURA CITADA

- Anderson B., Phillip, B., Hunt J., Largay B., Shihadeh R., Tjeerdema R. 2011. Pesticide and toxicity reduction using an integrated vegetated treatment system. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30(5): 1036–1043. ISSN: 1552-8618. DOI: 10.1002/etc.471
- Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2016. Estadísticas del agua en México.
- Díaz F.J., O'Green A.T., Dahlgren R.A. 2012. Agricultural pollutant removal by constructed wetlands: Implications for water management and design. *Agricultural Water Management*. 104: 171-183. ISSN: 0378-3774. DOI: 10.1016/j.agwat.2011.12.012
- Escobar J. 2002. La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar. Naciones Unidas, Santiago de Chile. 68p. ISSN: 1680-9025.

- Flora C., Kröger R. 2014. Use of vegetated drainage ditches and low-grade weirs for aquaculture effluent mitigation: I. Nutrients. *Aquacultural Engineering*. 60: 56-62. ISSN: 0144-8609. DOI: 10.1016/j.aquaeng.2014.04.006
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) 2017. Anuario estadístico geográfico de Sinaloa 2017.
- Imfeld G, Braeckevelt M., Kusch P., Richnow H.H. 2009. Monitoring and assessing processes of organic chemicals removal in constructed wetlands. *Chemosphere*. 74: 349-362. ISSN: 0045-6535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.09.062
- Moore M.T., Denton D.L., Cooper C.M., Wrynski J., Miller J.L., Werner I., Horner G., Crane D., Holcomb D.B., Huddleston G.M. 2011. Use of vegetated 45 agricultural drainage ditches to decrease pesticide transport from tomato and alfalfa fields in California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 30(5): 1044-1049. ISSN: 1552-8618. DOI: 10.1002/etc.474
- Rockstrom, J., W. Steffen, K. Noone, A. Persson, F. S. Chapin, III, E. Lambin, T. M. Lenton, M. Scheffer, C. Folke, H. Schellnhuber, B. Nykvist, C. A. De Wit, T. Hughes, S. van der Leeuw, H. Rodhe, S. Sorlin, P. K. Snyder, R. Costanza, U. Svedin, M. Falkenmark, L. Karlberg, R. W. Corell, V. J. Fabry, J. Hansen, B. Walker, D. Liverman, K. Richardson, P. Crutzen, and J. Foley. (2009). Planetary boundaries:exploring the safe operating space for humanity. *Ecology and Society* 14(2): 32. ISSN: 1708-3087

HONGOS DEL SUELO ASOCIADOS A LA MARCHITEZ DEL TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.) EN EL NORTE DE SINALOA.

Quintín Armando Ayala Armenta ¹, Hugo Beltrán Peña¹, Miguel Ángel Apodaca Sánchez ¹,
Juan Manuel Tovar Pedraza ², Carlos Patricio Saucedo Acosta ¹.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte.

¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte qaaa-4@hotmail.com ²Universidad Autónoma
Chapingo.

RESUMEN

La marchitez en tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) es inducida por hongos del suelo y puede ocasionar pudrición de semillas y raíces, ahorcamiento de la base de tallo, marchitez, amarillamiento general hasta la muerte de la planta. El presente trabajo se realizó con el objetivo de identificar a los hongos asociados con la marchitez del tomatillo. La colecta de 88 aislados fúngicos obtenidos de raíces y cuello de plantas con síntomas de marchitez se realizó en el norte de Sinaloa, la patogenicidad evaluada a 88 aislados en tomatillo cv Gran Esmeralda en invernadero se consideró a 37 aislados más virulentos con severidad mayor a 50 %. Tres aislados de *Rhizoctonia* sp., seis de *Fusarium* spp. y dos de *Macrophomina* sp. se inocularon en cultivares comerciales de tomatillo: Dalí, Siqueiros, Gabriela, Puebla, Tecozautla, San Miguel y Tamayo para probar su patogenicidad. Tres aislados de *Rhizoctonia* sp. y seis de *Fusarium* spp. se inocularon en cultivos de tomate, chile, pepino, frijol y maíz para determinar el rango de hospedantes. Con base en su morfología, los aislados se ubicaron en los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*. La PCR se realizó amplificando las regiones ITS4 e ITS5 para aislados de *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Macrophomina*. El gen EF-1 α se utilizó para *Fusarium*, y para *Macrophomina* se combinaron los genes EF-1728 y EF1986R, BT2A y BT2B, y ACT512F, ACT-783R. La caracterización molecular identificó a *Fusarium oxysporum*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium falciforme*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina* como los agentes causales de la marchitez del tomatillo.

Palabras clave: Marchitez, patogenicidad, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*

ABSTRACT

Tomatillo wilting (*Physalis ixocarpa* Brot) is mainly induced by soil fungi and can lead to seed and root rot, throttling from stem base, wilting, overall yellowing until death of the plant. The current essay was realized with the purpose of identifying all fungi associated with tomato wilting. The collection of 88 fungus isolates obtained from the root and neck of plants showing the symptoms was realized in Northern Sinaloa. Pathogenicity was evaluated to 88 isolates in tomatillo cv Gran Esmeralda and considered 37 of the most virulent with severity greater to 50%. Three isolates from *Rhizoctonia* sp, six from *Fusarium* spp and two from *Macrophomina* sp, all of them were inoculated in tomatillo commercial cultivars: Dali, Siqueiros, Gabriela, Puebla, Tecozautla, San Miguel and Tamayo to prove their pathogenicity. Three isolates from *Rhizoctonia* sp and six from *Fusarium* spp were inoculated on tomato, chili cucumber, maize and bean crops to determine the host range. According to morphology, all isolates were placed in the genera *Fusarium*, *Rhizoctonia* and *Macrophomina*. PCR was realized by magnifying the regions ITS4 and ITS5 to *Rhizoctonia*, *Fusarium* and *Macrophomina* isolates. Gene EF-1 was used by *Fusarium*, the combination of genes EF-1728 and EF 1986R, BT2A

and BT2B, ACT512F and ACT-783R for *Macrophomina*. Molecular characterization identified that *Fusarium oxisporum*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium falciforme*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina* as the agents that cause Tomatillo wilting

Keywords: wilting, pathogenicity, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*

INTRODUCCION

El tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) se conoce como tomate verde, tomate de cáscara, fresadilla o miltomate (Escobar *et al.*, 2009). A nivel nacional se cultiva en 25 de los 32 estados, con una superficie de 21,757 ha, es la quinta hortaliza cultivada después del chile (*Capsicum annuum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) y cebolla (*Allium cepa* L.) (SIAP, 2018). Sinaloa es el principal estado productor, durante el 2018 la superficie cultivada fue de 7,791 ha, con una producción de 169,093 t y rendimiento promedio de 21.7 t ha⁻¹ (SIAP, 2018), se estima, que este último, puede alcanzar las 40 t ha⁻¹ (Peña, 2001). La producción de tomatillo es afectada por enfermedades, entre las cuales sobresale la marchitez, provocada por hongos del suelo. En el norte de Sinaloa existe un ligero incremento de esta enfermedad; sin embargo, se carece de información concerniente a su incidencia, distribución e impacto sobre el cultivo. Debido a lo anterior es necesario caracterizar morfológica y molecularmente a los hongos asociados a la marchitez del tomatillo en Sinaloa para que se implementen medidas de manejo de la enfermedad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La marchitez o secadera en el cultivo del tomatillo es una enfermedad que se puede presentar en cualquier etapa del cultivo pudiendo ocasionar grandes pérdidas en el rendimiento. En el norte de Sinaloa se ha incrementado en los últimos años, por lo que es importante identificar a los microorganismos causantes de la secadera y proporcionar un manejo para esta enfermedad.

HIPÓTESIS

La marchitez o secadera del tomatillo, en el norte de Sinaloa, es inducida por al menos una especie de hongos del suelo.

OBJETIVO GENERAL

Identificar a los agentes causales de la marchitez en el cultivo del tomatillo en Sinaloa.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Obtener aislados de hongos provenientes de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez en Sinaloa.

Evaluar la patogenicidad de los hongos que ocasionan la marchitez en tomatillo en Sinaloa.

Identificar morfológica y molecularmente a los hongos del suelo que ocasionan la marchitez en tomatillo en Sinaloa.

Conocer la susceptibilidad de siete variedades de tomatillo a la marchitez en Sinaloa.

Determinar el rango de hospedantes de los agentes causales de la marchitez del tomatillo en pepino, tomate, chile, frijol y maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de aislados. En 19 plantaciones comerciales de tomatillo, distribuidas en los municipios de Ahome, El Fuerte y Guasave, se colectaron siete plantas por plantación con síntomas de marchitez, durante los ciclos otoño invierno 2015-2016 y 2016-2017. Trozos de raíz, cuello y base de tallo, se desinfectaron mediante inmersión en NaClO_2 % durante 30 s y enseguida se lavó con agua destilada estéril. El material se sembró en cajas Petri con medio papa dextrosa agar (PDA) y se incubó a temperatura ambiente (22 a 24 °C) y luz difusa, durante 48 h. Los aislados puros que se obtuvieron se realizó mediante transferencias de punta de hifa o cultivos monoconidiales (Zhang *et al.*, 2012; Fernández *et al.*, 2013). Los aislados monoconidiales se preservaron en tubos de cultivo con arena, mientras que los monomiceliales en tubos con PDA cubiertos con más aceite mineral, y a 4 °C.

Patogenicidad de los aislados. Un total de 88 aislados fúngicos ubicados en los géneros *Fusarium*, *Macrophomina* y *Rhizoctonia* se sometieron a pruebas de patogenicidad en invernadero. En vasos de poliestireno expandido (EPS), con capacidad de 500 mL, se depositaron 200 g de sustrato estéril compuesto por arena de río y peat moss (1:3 v/v), En cada vaso con sustrato se depositó cuatro rodajas de PDA-hongo y sobre cada una de ellas se depositaron dos semillas de tomatillo cv. Gran Esmeralda (Harris-Moran Mexicana®), las semillas sembradas se cubrieron con sustrato. En el testigo, las semillas se sembraron sobre rodajas de PDA. Los vasos sembrados se incubaron cinco días a temperatura de laboratorio (20-24 °C). A los cinco días después de la siembra (dds) los vasos con las plántulas emergidas se destaparon y se llevaron a invernadero, en donde se mantuvieron durante 30 días a 15-30 °C. A los nueve dds se evaluó el porcentaje de germinación, mientras que la altura de plántula, diámetro de tallo, volumen de raíz, peso seco de tallo y follaje, se evaluaron 30 dds. La severidad de los síntomas se estimó mediante la escala de Wang y Jeffers (2000), con ligeras modificaciones. El análisis estadístico para todas las variables se realizó con el programa Infostat 2016. La prueba de Shapiro Wilks se utilizó para constatar la normalidad de los datos y la prueba de Bartlett para la homogeneidad de varianzas. El análisis de varianza no paramétrico se realizó mediante la prueba de Kruskal Wallis y la comparación de rangos medios de Conmover ($P \leq 0.05$).

Caracterización morfológica. De 37 aislados que resultaron patogénicos en plántulas de tomatillo se caracterizaron morfológicamente. Los aislados de *Fusarium*, *Macrophomina* y *Rhizoctonia* se cultivaron en medio PDA para determinar color del micelio (a los 10 días de incubación); tasa de crecimiento (cada 24 hr hasta llenar la caja Petri) de las colonias. Los aislados monoconidiales de *Fusarium* spp. se sembraron e incubaron por 10 días, en medio agar hoja de clavel (CLA) para determinar la forma de macroconidios y microconidios; número, largo y ancho de conidios, presencia de fíalides y formación de clamidosporas (Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2008). En los aislados de *Rhizoctonia* sp. en PDA, se registró el ancho del micelio, constricción cerca de la base de la ramificación de la hifa dispuesta en ángulo recto, el micelio se tiñó con KOH 3 % y safranina 'O' 0.03 % para registrar el número de núcleos por célula; 20 células jóvenes en colonias de cinco días de crecimiento (Sneh *et al.*, 1991; Goh *et al.*, 1992). En aislados de *Macrophomina* sp.

cultivados en PDA, se registró el largo y ancho de micelio, y diámetro de micro esclerocios (Watanabe, 2002).

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación. La extracción de ADN se realizó con base en el protocolo de Rojas-Martínez *et al.* (2016), con ligeras modificaciones, usando colonias en PDA de cinco días de crecimiento incubadas a 25 °C ± 1 en oscuridad. La amplificación de las regiones ITS (ITS5 e ITS4) para *Fusarium spp.*, *Macrophomina sp.* y *Rhizoctonia sp.* se realizó con los primers descritos por White *et al.* (1990). En *Fusarium spp.* también se amplificó la región EF (EF1-728F y EF1-986R) (de Hoog and Gerrits Van Den Ende, 1988; Carbone and Kohn, 1999). En *Macrophomina sp.* se amplificaron las regiones ACT (ACT-512F y ATC-783R) con los primers descritos por Carbone y Kohn (1999) y β -tubulina (BT2A y BT2B), con los primers descritos por Maharachchikumbura *et al.* (2012). La integridad de los productos de PCR amplificados se verificó por electroforesis en gel de agarosa 1%, mientras que la calidad y concentración en un espectrofotómetro. La secuenciación se realizó por la empresa Macrogen (Seúl, Korea). El análisis de las secuencias fue por alineación de secuencias en el programa BLAST del NCBI (National Center for Biotechnology Information website, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Conocer la susceptibilidad de siete variedades de tomatillo a la marchitez en Sinaloa. Los cultivares evaluados fueron Dalí, Siqueiros, Gabriela, Puebla, Tecozautla, San Miguel y Tamayo. En vasos de unicel con capacidad de 1000 mL, se depositaron 500 g de sustrato estéril (mezcla 1:3 de arena con peat moss), humedecido a punto de siembra. Tres de los aislados más virulentos de *Rhizoctonia sp.*, y *Fusarium spp* y dos de *Macrophomina sp.* se utilizaron para las pruebas de patogenicidad. *Rhizoctonia* y *Macrophomina* se inocularon en sorgo y *Fusarium* sobre maíz para incrementar el inóculo (Rodríguez *et al.*, 2012). De cada aislado se tomaron cinco gramos y se mezcló con el sustrato en cada vaso y en cada uno se depositaron cinco semillas de tomatillo. Cada aislado y cada material comercial se repitieron tres veces. En el caso de los testigos se depositaron cinco semillas sobre sustrato húmedo sin hongo en cada vaso. Finalmente las semillas inoculadas y testigos se cubrieron con una capa de 2 cm de sustrato húmedo. Todos los vasos se incubaron en laboratorio por cinco días, a temperatura ambiente (20-27°C). Los tratamientos (vasos) se dispusieron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. A los cinco dds los vasos se destaparon y se pasaron a invernadero por 30 días a temperatura ambiente (15-30 °C), después se regaron con agua purificada y se le dio un manejo de acuerdo a las necesidades del cultivo. Las variables medibles y el análisis estadístico fue el mismo que se utilizó en la patogenicidad de los aislados. De la misma forma se analizó cada material de tomatillo/patógeno para cumplir con los postulados de Koch.

Determinar el rango de hospedantes de los agentes causales de la marchitez del tomatillo en Pepino, Tomate, chile, frijol y maíz. Este objetivo se encuentra en proceso

RESULTADOS

Los síntomas observados en tomatillo fueron pudrición de semillas y raíces, las cuales se tornaron de color café; desarrollo radicular reducido y ahorcamiento de la base del tallo; clorosis general del follaje, marchitez y muerte de plántulas. De los 88 aislados patogénicos evaluados, 37 se consideraron los más virulentos con severidad superior a 50%. Las plantas

utilizadas como control se mantuvieron sanas. Las características de los reaislamientos fúngicos obtenidos coincidieron con los hongos inoculados para esta prueba. Los síntomas observados por *Fusarium* fueron pudrición de semillas y raíces, desarrollo radicular reducido, marchitez y muerte de plántulas. En las variables porcentaje de germinación, altura de planta, diámetro de tallo, y severidad se comportaron igual que el testigo (cuadro 1). En el género *Rhizoctonia* se observó pudrición de semilla y raíces de color café, ahorcamiento en la base del tallo, marchitez, clorosis y muerte prematura de plántulas. Nueve dds, se observó semillas no germinadas o plántulas muertas. Los aislados más virulentos fueron *Rhizoctonia* 115, 116, 118, 120, 122 y 126 (cuadro 2). induciendo severidad máxima de 5.0. En aislados de *Macrophomina* inoculados se observó pudrición de semillas y raíz de color negro, marchitez y muerte prematura de plántulas. Para las variables porcentaje de germinación y diámetro de tallo los aislados del género *Macrophomina* se comportaron igual que el testigo. Los aislados más virulentos fueron *Macrophomina* 147 y 150 (cuadro 3).

Cuadro 1. Efecto de 17 aislados de *Fusarium* spp. sobre el desarrollo del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a los 30 días después de la inoculación en condiciones de invernadero.

Aislado	Germinación		Diámetro				Volumen		Peso seco		Severidad	
	*		Altura planta		tallo		raíz		(g)		(Escala 0-5)	
	Medi	Rang	Medi	Rang	Medi	Rang	Medi	Rang	Medi	Rang	Medi	Rang
	a	o	a	o	a	o	a	o	a	o	a	o
								37.8		16.0		
F145	37.5	26.7	39.3	21.7	6.7	27.3	8.3	cf	0.3	ac	3.1	28.7
								40.3		26.3		
F144	29.2	20.3	34.2	17.8	5.7	24.3	8.7	df	0.4	ae	3.3	32.0
								10.3		14.2		
F143	25.0	17.3	29.5	14.8	4.5	17.2	2.7	ab	0.3	ac	3.8	38.0
								24.7		26.3		
F142	45.8	31.5	48.3	28.3	7.7	35.2	5.3	af	0.4	ae	2.7	24.0
								13.7		12.3		
F141	41.7	29.8	39.3	22.5	6.0	26.5	3.3	ac	0.3	ab	2.9	25.5
								24.7		12.3		
F140	25.0	17.3	31.7	16.0	4.3	15.7	5.3	af	0.3	ab	4.0	40.8
								10.3		34.3		
F139	45.8	33.0	35.2	20.7	7.5	34.0	2.7	ab	0.5	be	2.7	22.2
F146	20.8	13.7	15.8	11.2	2.3	8.7	0.8	3.8 ^a	0.2	8.2 ^a	4.4	45.3
								23.3		36.0		
F130	37.5	26.7	55.8	34.5	6.3	29.0	5.3	ae	0.5	be	3.1	28.8
								14.0		36.0		
F138	50.0	36.7	54.0	33.2	8.2	40.7	3.3	ac	0.5	be	2.7	22.2
								29.8		22.0		
F137	41.7	30.3	59.2	38.0	5.8	25.2	6.3	bf	0.4	ad	2.9	25.5
										34.3		
F136	41.7	30.3	58.3	36.3	6.5	30.5	10.7	49.7 ^f	0.5	be	2.9	25.5
F135	33.3	24.2	49.5	27.7	5.3	21.3	8.3	38.2	0.5	29.5	3.3	31.5

									cf	ae		
									32.5			
F134	25.0	17.3	49.3	29.0	5.2	20.7	7.3		bf	0.8	50.8 ^e	2.5 23.5
									36.2		39.2	
F132	50.0	36.7	51.7	30.8	7.3	35.2	8.0		cf	0.5	ce	2.5 18.8
									36.3		25.8	
F133	41.7	30.2	59.7	35.8	7.0	31.3	8.0		cf	0.4	ae	2.9 25.8
									21.5		25.7	
F131	29.2	20.0	46.0	23.7	4.3	19.3	4.7		ad	0.4	ae	3.5 34.8
									47.8		45.7	
Testigo	100.0	53.0	119.0	53.0	14.0	53.0	10.3		ef	0.6	de	0.0 2.0

Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales con un valor de significancia de $\alpha = 0.05$.

* nueve ddi

Cuadro 2. Efecto de 15 aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a los 30 días después de la inoculación en condiciones de invernadero.

Aislado	Germinación*		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Peso seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(ml)		(g)		(Escala 0-5)	
	Medi a	Rang o	Medi a	Rang o	Medi a	Rang o	Medi a	Rang o	Medi a	Rang o	Medi a	Rang o
R118	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	35.5 ^c
R126	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	35.5 ^c
R120	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	35.5 ^c
R115	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	35.5 ^c
R116	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	35.5 ^c
R122	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	35.5 ^c
R124	4.2	19.5 ^{ab}	9.4	20.3 ^{ab}	0.7	18.7 ^{ab}	0.7	20.2 ^{ab}	0.1	20.8 ^{ab}	4.8	30.2 ^{bc}
R127	8.3	21.3 ^{ab}	10.7	20.7 ^{ab}	1.5	21.0 ^{ac}	2.7	23.2 ^{ab}	0.1	20.8 ^{ab}	4.6	28.3 ^{bc}
R125	8.3	21.3 ^{ab}	11.8	21.0 ^{ab}	1.7	21.8 ^{ac}	2.7	23.2 ^{ab}	0.2	23.8 ^{ac}	4.6	28.3 ^{bc}
R121	8.3	25.0 ^{ac}	14.2	24.0 ^{ac}	2.2	25.7 ^{ad}	3.3	24.8 ^{ac}	0.1	24.0 ^{ac}	4.6	24.83 ^{ac}

R116	12.5	26.8 ac	21.7	26.7 ac	2.5	27.0 ad	1.0	25.0 ac	0.2	25.8 ac	2.7	12.0 ab
R117	16.7	32.3 ac	45.2	32.0 ac	4.5	30.0 ad	2.7	27.8 ac	0.3	29.5 ac	4.2	17.7 ac
R123	37.5	32.7 ac	30.0	33.0 ac	4.0	34.0 ad	3.7	33.7 ac	0.4	36.3 ac	3.1	17.2 ac
R129	50.0	40.3 bc	68.3	41.7 bc	7.7	40.8 bd	6.7	38.5 bc	0.5	38.2 ^{bc}	2.5	9.7 ^{ab}
R128	50.0	41.7 bc	76.3	42.3 bc	7.8	42.0 cd	8.7	42.3 bc	0.6	44.3 ^c	2.5	8.3 ^{ab}
Testigo	100.0	47.0 ^c	119.0	46.3 ^c	14.0	47.0 ^d	10.3	46.3 ^c	0.6	44.3 ^c	0.0	2.5 ^a

Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales con un valor de significancia de $\alpha = 0.05$. * nueve ddi

Cuadro 3. Efecto de Cinco aislados de *Macrophomina phaseolina* sobre el desarrollo del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a los 30 días después de la inoculación en condiciones de invernadero

Aislado	Germinación		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Peso seco		Severidad	
	*		(cm)		(mm)		(ml)		(g)		(Escala 0-5)	
	Medi a	Rang o	Medi a	Rang o	Media o	Rang o	Media o	Rango	Medi a	Rango	Media o	Rango
M147	58.3	8.8	46.0	5.3 ^a	5.5	5.67	4.3	4.8 ^a	0.3	5.5 ^{ab}	3.3	12.0 ^b
M150	70.8	11	44.2	4.0 ^a	4.7	4.33	1.7	2.8 ^a	0.2	3.0 ^a	4.6	16.0 ^b
M149	45.8	6.0	62.3	7.7 ^a	8.0	11.0	10.0	10.3 ^{bc}	0.5	12.2 ^{bc}	2.7	10.0 ^{ab}
M148	50.0	6.0	82.7	11.0 ^{ab}	6.7	9.0	7.7	8.2 ^{ac}	0.5	9.2 ^{ac}	2.5	8.3 ^{ab}
M151	54.2	7.67	82.5	12.0 ^{ab}	7.3	10.0	9.7	12.8 ^{bc}	0.5	12.0 ^{bc}	2.3	8.2 ^{ab}
Testigo	100.0	17.0	0	119.0	14.0	17.0	10.3	15.0 ^c	0.6	15.2 ^c	0.0	2.0 ^a

Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales con un valor de significancia de $\alpha = 0.05$. * nueve ddi

Caracterización morfológica. De los 37 aislados más virulentos, 17 corresponden a *Fusarium* spp. (cuadro1), 15 a *Rhizoctonia* sp. (cuadro 2) y cinco a *Macrophomina* (cuadro 3). Once aislados de *Fusarium* en PDA presentaron crecimiento micelial promedio de 2.2 cm por día y colonias de color violeta, púrpura y rosácea; mientras que, en medio CLA se observó microconidios ovales sin o con un septo transversal con medidas de 20.0-41.0 de largo x 3.1-5.10 μm de ancho, monofiálides cortas y clamidosporas solas globosas, características propias de *F. oxysporum* (Leslie y Summerell, 2006). En tres aislados de *Fusarium* en PDA se observó colonias color blanco a gris y color rosáceo al centro de la

colonia, con un crecimiento micelial promedio de 1.88 cm por día; en CLA mostró microconidios ovales con uno o ningún septo con longitudes de 3.9-13.3 x 1.6-5.7 μm de ancho, macroconidios ligeramente curvado con tres septos transversales con medidas de 10.5-52.7 de largo x 1.1-7.9 μm de ancho, monofiálides cortas y clamidosporas globosas solas o en pares, características de *F. nygamai* (Leslie y Summerell, 2006); por último tres aislados más formaron colonias de color amarillenta a café fuerte, con crecimiento promedio de 2.11 cm por día y en CLA presentaron microconidios ovales de sin o con un septo transversal con medidas de 5.9-21.0 de largo x 2.4-4.8 μm de ancho, macroconidios de ligera curvatura con tres septos y medidas de 23.0-37.0 de longitud x 3.8-5.5 μm de ancho, monofiálides relativamente largas y clamidosporas globosas uni o bicelulares, características propias de *F. falciforme* (Sousa *et al.*, 2017). El género *Rhizoctonia* en PDA mostró 15 aislados, colonias color café claro a marrón y crecimiento micelial medio de 2.4 cm por día. El micelio presentó ramificaciones con célula basal de la hifa constreñida, la cual forma un ángulo recto de 90°, dando una apariencia de T. La tinción de micelio mostró hifas multinucleadas, con anchura desde 5.2 hasta 11.4 μm ., características propias de *R. solani* (Sneh *et al.*, 1996). *Macrophomina*, en los cinco aislados en medio de cultivo PDA, presentó hifas hialinas de longitud y anchura respectivamente 8.3-15.6 x 2.2 x 4.9 μm , cuyo color, con el paso del tiempo, se tornó oscuro y formó colonias de dicha tonalidad, mostró microesclerocios negros, globosos de forma irregular, con diámetro de 12.7 a 30.9 μm , las características anteriores coinciden con las reportadas para *M. phaseolina* (Watanabe, 2002).

Análisis filogenético. El análisis filogenético se realizó mediante el análisis de Inferencia Bayesiana (IB) y Máxima Verosimilitud (MV), tanto para *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* sp. y *Macrophomina* sp. El Filograma obtenido con los 17 aislados de *Fusarium*, donde se analizó la secuencia de la región ITS y TEF de forma individual, generó tres clados en ambos casos. El primer clado se formó con 11 aislados y los identificó como *F. oxysporum*. El segundo clado contuvo tres aislados identificados como *F. nygamai*. El tercer clado también se compuso de tres aislados ubicados como *F. falciforme*. El árbol filogenético obtenido con 15 aislados de *Rhizoctonia*, donde se analizó la secuencia de la región ITS, ubicó a todos los aislados en un solo clado y los identificó como *R. solani* dentro del grupo de anastomosis IV (AG IV). El árbol filogenético obtenido para *Macrophomina* con la secuencia concatenada de la región ITS, TEF, TUB y ACT identificó a los cinco aislados como *Macrophomina phaseolina*.

DISCUSIÓN

El presente trabajo se planteó como objetivos determinar la etiología de la marchitez o secadera del tomatillo, a la cual se han hallado asociados a un complejo de hongos del suelo, como *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia Solani* (Flores, 2009; Apodaca *et al.*, 2008), pero se carecía de evidencia experimental suficiente, para considerarlos como agentes causales de esta enfermedad, hasta la fecha no existen reportes formales de los agentes causales de la enfermedad de la marchitez del tomatillo en Sinaloa. La sintomatología observada en campo en plantas con marchitez fue pudrición de raíces y base de tallo, marchitez general de plantas, clorosis, frutos secos y muerte de plantas. Las plantas con síntomas se localizaron con más frecuencia en partes bajas de cada plantación y con exceso de humedad. Se

obtuvo 51 aislados del género *Fusarium*, 21 de *Rhizoctonia* y 16 aislados de *Macrophomina*. Se estimó 88 aislados patogénicos. La especie *F. oxysporum* presentó en PDA colonias violetas, o rosáceas y en medio CLA se observaron fialides cortas, microconidios aceptados o con un septo transversal, macroconidios de tres septos (Leslie y Summerell, 2006), lo cual coincide con lo observado en once aislados obtenidos de plantas de tomatillo con la enfermedad de marchitez, lo cual se confirmó mediante amplificación y secuenciación de las regiones ITS y EF-1^a. El análisis filogenético confirmó que pertenecen a *F. oxysporum*. El tamaño de microconidios y macroconidios de éstos aislados son similares a los registrados por Nelson *et al.* (1983) y Vázquez *et al.* (2009) para esta especie, en tomate se reporta marchitez, manchas amarillentas y lesiones ascendentes en el tallo (Cruz *et al.*, 1999), en tomate se reporta síntomas de amarillamiento foliar, marchitez parcial o total, coloración café en raíz (Hernández *et al.*, 2014), en tomate, chile, rábano, y sorgo se reporta severidad entre un 80 y 100 % (Apodaca *et al.*, 2004), en chile se reporta cancros en el cuello de raíz, estrangulamiento y muerte de plántulas (Vázquez *et al.*, 2009). En chile infectado con *F. oxysporum* se reportan plantas marchitas y de menor tamaño con los tallos erguidos, hojas colgantes y frutos secos (Albañil *et al.*, 2015). Los aislados de *F. nygamai* en PDA desarrollo colonias de color blanco a gris y color rosáceo al centro de la colonia. En CLA se observó fialides relativamente cortas, los microconidios fueron ovales con uno o ningún septo transversal, macroconidios en forma de canoa con tres septos transversales lo que coincide con lo reportado por Leslie y Summerell, (2006) similar con lo obtenido en tres aislados obtenidos de plantas de tomatillo con la enfermedad de marchitez, lo cual se confirmó mediante amplificación y secuenciación de las regiones ITS y EF-1^a. El análisis filogenético identificó como *F. nygamay*, se formó de un clado separado dentro de *F. oxysporum*, *F. nygamai* se distingue por la formación de microconidios en cadenas cortas (Kvas *et al.*, 2009). El tamaño de microconidios y macroconidios de estos aislados son similares a los reportados por Nelson *et al.* (1983). En garbanzo se reporta a *F. nygamai* con síntomas de color verde pálido hasta la marchitez de plantas (Duarte *et al.*, 2016). En caña de azúcar se reporta síntomas de necrosis de raíz y marchitez (Martínez *et al.*, 2015). *F. nygamai* es una especie que se reporta por primera vez afectando solanáceas, solamente se le había asociado con pudriciones de raíz en espárrago, maíz, arroz y sorgo (Leslie y Summerell, 2006), cuyos síntomas son similares a los encontrados en esta investigación en plantas de tomatillo infectadas por este mismo patógeno. En PDA *F. falciforme* formó colonias de color amarillenta a café fuerte, en CLA desarrolló fialides relativamente largas, los microconidios fueron ovales de ningún a un septo transversal, macroconidios de curvos a rectos con tres septos, de acuerdo a lo reportado por Rentería *et al.* (2018) y Chehri *et al.* (2015), lo cual se confirmó mediante amplificación y secuenciación de las regiones ITS y EF-1a y el análisis filogenético que formó un clado separado dentro de un complejo de especies de *F. solani*. Este complejo agrupa por lo menos a 60 especies, quienes por su similitud en sus conidios, son llamados especies crípticas; se han sub dividido en formas especiales (f.sp.) dependiendo de la especificidad en sus hospedantes (O'Donnell *et al.*, 2015). El tamaño de microconidios y macroconidios de aislados de *F. falciforme*, son similares a los indicados por Sousa *et al.* (2017). En frijol lima *F. falciforme* causa pudrición de raíz (Sousa *et al.*, 2017); en sandía pudrición de raíz, amarillamiento y marchitez de plántulas (Rentería *et al.*, 2018); mientras que en tomate ocurre amarillamiento de hojas,

oscurecimiento de tejido vascular, marchitez y muerte de la planta (Vega-Gutiérrez *et al.*, 2019). El hongo *R. solani* es un importante patógeno de suelo que infecta una amplia variedad de cultivos de importancia económica a nivel mundial (Ajayi y Bradley, 2018). *R. solani* se caracteriza por formar en PDA colonias de color café claro a marrón. El micelio es septado, y se presenta una constricción en la célula basal de la hifa, la cual forma un ángulo recto, dando una apariencia de “T”; las células son multinucleadas (Sneh *et al.*, 1996). Además, la identidad de los aislados patogénicos se confirmó mediante amplificación y secuenciación de las regiones ITS y el análisis filogenético; éste último los ubicó dentro del grupo de anastomosis AG-4. Este grupo infecta a especies vegetales (algodón, chícharo, tomate, papa, soya, cebolla) en los cuales ocasiona pudrición de fruto, pudrición de tallo, ahogamiento, cancro de tallo, pudrición de raíz y pudrición de vaina (Ceresine, 1999; Ajayi y Bradley, 2018). En tomate infectado con *R. solani* se reportan síntomas de marchitez, clorosis generalizada del follaje, pudrición de raíces, en chile infectado con *R. solani* se reporta síntomas de marchitez y clorosis, así como pudriciones de color café a café oscuro en las raíces y tallos (Montero *et al.*, 2013; Albañil *et al.*, 2015). En frijol se reportó hasta un 25 % de germinación y daños en preemergencia y una severidad de 4.3 y 5.3 (Navarrete *et al.*, 2009). El patógeno *M. phaseolina* es un hongo que ocasiona la enfermedad pudrición carbonosa, en un amplio rango de hospedantes tales como frijol, maíz, soya, sorgo, ajonjolí, algodón, girasol y cártamo (Dhingra y Sinclair, 1978). *M. phaseolina* se caracteriza por formar en PDA hifas septadas hialinas que con el tiempo se tornaron de color oscuro. Los microesclerocios son negros, numerosos, pequeños y globosos de forma irregular Watanabe (2002). La identidad de estos aislados se confirmó mediante amplificación y secuenciación de las regiones ITS, EF-1a, BT, y ACT y el análisis filogenético. Tejidos de raíz y tallo sintomáticos de caña de azúcar y sembrados en PDA desarrollaron microesclerocios de forma esférica a irregular, negros, lisos, duros de 85-130 μm de diámetro (Leyva-Mir *et al.*, 2015), el diámetro no correspondió con lo obtenido en esta investigación quizás debido a la variabilidad morfológica, genética. Se ha reportado en diferentes partes del mundo que las poblaciones de *M. phaseolina* presentan variaciones significativas en su morfología, fisiología, patogenicidad, y genética (Mihail y Taylor, 1995; Mayek *et al.*, 1997; Mayek *et al.*, 2001). *M. phaseolina* es un patógeno que puede ocasionar la muerte de plántulas en pre y pos emergencia o reducir el vigor de las plantas (Abawi y Pastor-Corrales, 1990). En caña de azúcar se observó pudrición seca de raíz y tallo, marchitez y muerte prematura (Leyva-Mir *et al.*, 2015). En chile se detectaron canchros en el cuello de raíz y muerte de plántulas (Vázquez *et al.*, 2009). En frijol se registró una alta severidad mayor a 5.0 y reducido peso seco de biomasa (Mayek *et al.*, 2002) y reducción en rendimiento de semillas (Mayek *et al.*, 2001).

CONCLUSIONES

Las pruebas de patogenicidad aplicadas a los aislados obtenidos en tomatillo en invernadero mostraron que 37 aislados fueron los más virulentos con un nivel de severidad mayor a 50 %.

La morfología observada en los aislados más virulentos correspondió a los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*.

El análisis filogenético ubicó a *Fusarium oxysporum*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium falciforme*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina* como agentes que inducen la marchitez en tomatillo.

LITERATURA CITADA

- Ajayi O y Bradley C. 2018. *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of *Rhizoctonia* seedling disease of soybean. Plant Pathology 67:3-17.
- Apodaca S M A, Barreras S M A, Cortez M E, Quintero B J A. 2008. Enfermedades del tomate de cáscara en Sinaloa. Folleto técnico No. 31. Campo Experimental Valle del Fuerte. CIRNO-INIFAP. Los Mochis, Sinaloa, México. 32 p.
- Albañil J J A, Mariscal A L A, Martínez M T O, Anaya L J L, Cisneros L H C, Pérez R H A. 2015. Estudio general de fitopatógenos asociados a la secadera en Guanajuato, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 11: 2191 – 2197.
- Abawi G S and Pastor-Corrales M A.1990. Root rots of beans in Latin America and Africa: Diagnosis, research methodologies, management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia p. 114
- Blancard D, Lecoq H, y Pitrat M. 2000. Enfermedades de las cucurbitáceas: observar, identificar, luchar. Ediciones mundi-prensa. Barcelona 187 pp.
- Carbone I. Kohn L M. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. Mycologia 91:553-556.
- Ceresine P. 1999. *Rhizoctonia* spp. Pathogen profile. Soilborne Plant Pathogens offered on spring *R. solani* on page. <https://projects.ncsu.edu/cals/course/pp728/Rhizoctonia/Hostrange.html> fecha de consulta: noviembre 2018.
- Chehri K, Salleh B and Zakaria L. 2015. Morphological and phylogenetic analysis of *Fusarium solani* species complex in Malaysia. Microbial ecology. 69: 457-471.
- Cruz A A, Mendoza Z C, Romero C S. 1999. Identificación de hongos del suelo que causan pudriciones de raíz y cuello del tomate (*Solanum lycopersicum*). Revista Chapingo serie Horticultura 6:25-32
- De Hoog G S. Gerrits Van den Ende A G H. 1998. Molecular diagnosis of clinical strains of filamentous Basidiomycetes. Mycoses 41:183-189.
- Dhingra O D, and Sinclair J B. 1978. Biology and Pathology of *Macrophomina phaseolina* Universidad Federal de Vicosa. Vicosa, Brasil. 166 p.
- Duarte L Y, Echevarría HA, Martínez C B. 2016. Identificación y caracterización de aislamientos de *Fusarium* spp. presentes en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba. Revista Protección Vegetal 31:173-183
- Escobar G. R E, Hernández G F, Martínez de la V O, Ochoa A N 2009. *In vitro* embryo formation and plant regeneration from anther culture of different cultivars of Mexican husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.). Plant cells tiss organ cult 96:181-189.
- Fernández H E, Guerrero R J C, Rueda P E O, Acosta R M.2013.Patógenos y síntomas asociados a la marchitez del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) En Texcoco México. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud www.biotecnia.uson.mx. Volumen XV, Número 3

- Flores S. J. L. 2009. Respuesta de 13 genotipos de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a virosis y marchitamiento fungoso en Sinaloa, México. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. 45 p.
- Goh C J, Si A A, y Lim G. 1992. Mycorrhizal associations in some tropical orchids. *Lindleyana* 7:13 - 17.
- Hernández M R, López B A, Borrego E F, Espinoza V J, Sánchez A D, Maldonado M I E, López O L A. 2014 Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5:1169-1178
- Leyva M S G, Velázquez M G C, Tlapal B B, Tovar P J M, Rosas S H y Alvarado G O G. 2015. Caracterización morfológica y molecular de aislados de *Macrophomina phaseolina* asociados a caña de azúcar en México. *Revista Argentina Microbiología*; 47:143-147.
- Leslie F. J., Summerell A. B. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing, Iowa 388 p.
- Maharachchikumbura SSN, Guo LD, Chukeatirote E, McKenzie EHC, Hyde KD (2012) A destructive new disease of *Syzygium samarangense* in Thailand caused by the new species *Pestalotiopsis samarangensis*.
- Martínez F E, Martínez J P, Guillén S D, Peña C G, Hernández H V M. 2015. Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología* 42:33-43
- Mayek P N, López C C, Acosta G J A. 1997. Variación en características culturales *in vitro* de aislamientos de *Macrophomina phaseolina* y su virulencia en frijol. *Agrociencia* 31:187-195.
- Mayek P N, López C C, González C M, García E R, Acosta G J A, Martínez de la Vega O. and Simpson J. 2001. Variability of Mexican isolates of *Macrophomina phaseolina* on bases of pathogenesis and AFLP genotype. *Physiological and molecular Plant Pathology* 59: 257-264.
- Mayek P N, López C C, López S E, Cupian G J, Acosta G J A. 2001. Resistencia a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol común en condiciones de campo en México. *Agrociencia* 35:649-661.
- Mayek P N, López C C, Acosta G J A. 2002. Reacción de germoplasma de *Phaseolus* sp. a *Macrophomina phaseolina*. *Revista Fitotecnia México* 1:35-42.
- Mejía B M A, Reyes R A, Cristóbal A J, Tun- Suárez JM, Borgues G LC y Pacheco A J R. 2016. *Bacillus* spp. in the Control of Wilt caused by *Fusarium* spp. *Capsicum chinense*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 34:208-222.
- Mihail J D, and Taylor S J. 1995. Interpreting of variability among isolates of *Macrophomina phaseolina* in pathogenicity pycnidium production and chlorate utilization. *Canadian Journal of Botany* 73:1596-1603.
- Montero T V, Guerrero A B Z, Anaya L J L, Martínez M T O, Guevara O L, González C M M. 2013. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) de Chile en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4:1043-1054.
- Navarrete M R, Trejo A E, Navarrete M J, Prudencio S J M, Acosta G J A. 2009. Reacción de genotipos de frijol a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agricultura técnica en México*. 35:455-466.
- Nelson P E, T.A. Toussoun and W F O. Marasas. 1983. *Fusarium* species and

illustrated manual for identification. the Pennsylvania University press. University park and London USA 193 p.

O' Donnell K, Ward TJ, Robert VARG, Crous PW, Geiser DM, and Kang S. 2015. DNA Secuence-based identification of fusarium: current status and future directions. *Phytoparsitica* 43:583- 595.

Peña L A, Márquez S F, y Pérez G M. 1990. Mejoramiento genético de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo de México. 380 pp.

Peña L A. 2001. Situación actual y perspectivas de la producción y mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Primer Simposio Nacional. Técnicas modernas de producción de tomate, papa y otras solanáceas. Universidad Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. p 10.

Rodríguez A G, García L J y Fernández P S P. 2011. Enfermedades del Jitomate (*Solanum lycopersicum*) cultivado en invernadero en la zona centro de Michoacán. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29:50-60.

Rojas M R, Camacho T M, Zavaleta M E, Levy J. 2016. First report of the presence of haplotypes A and B of *Candidatus* *Liberibacter solanacearum* i chili (*Capsicum annuum* L.) in the central región of Mexico. *Journal of Plant Pathology* 98:111-115.

Rentería M M E, Guerra C M A, Ochoa M A, Moreno S S F, Varela R A, Gutiérrez M L E, Mesa M A C. 2018. Multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36: 233-255.

Rentería M M E, Guerra C M A, Ochoa M A, Moreno S S F, Meza M A C and Guzmán O J M. 2018. Description and comparison among morphotypes of *Fusarium brachygibbosum*, *F. falciforme* and *F. oxysporum* pathogenic to watermelon in Sonora, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37:16-34.

SIAP. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera 2017. Anuario estadístico de la producción agrícola: Consulta enero 2019.

Sneh S, Jajabi-Hare S, Neate G. 1996. *Dijst: Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Diseases Control, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.

Smith S N. 2007. An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with specal emphasis on the soil-borne pathogenics forms. *Plant pathology bulletin* 16:97-120

Sousa E S, Melo M P, Mota J M, Sousa E. M. J, and Beserra Jr J E A. 2017. First Report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) Causing Root Rot in Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. 101, Page 1954

Vásquez L A, Tlapal B B, Yáñez M M de Jesús, Pérez P R, Quintos E M. 2009. Etiología de la marchitez del 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México *Revista Fitotecnia Mexicana* 32:127-134.

Vega G T A, López O C A and G. A. López U G A, Velarde F S, L. A. Amarillas B L A, Martínez C A R, Allende M R. 2019. Foot Rot and Wilt in Tomato Caused by *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) in Mexico. *Plant disease* 103:157 <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1001-PDN>

Kvas M, Marasas W F O, Wingfield B D, Wingfield M J, Steenkamp E T, 2009. Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. *Fungal Diversity* 34:1-21.

Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of soil and seed fungi. Morphologies of Cultures Fungi and key to Species. Second edition. CRC Press. New York 500 p.

Wang B, Jeffers S N. 2000. *Fusarium* root and crown rot: a disease of container-grown host. Plant Disease 84:980-988.

White T J, Bruns T, Lee S J W T, & Taylor J W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18:315-322.

RELACIÓN DE LAS VARIABLES AMBIENTALES Y DE MANEJO CON LA PRESENCIA DE PARÁSITOS MONOGENÉOS Y TRICODINIDOS EN LA TILAPIA DEL NILO *Oreochromis niloticus* CULTIVADAS EN GRANJAS DE OAXACA, GUERRERO Y CHIAPAS

Juan Manuel Osuna Cabanillas¹, Juan Francisco Arzola González², Emma Josefina Fajer Ávila³, Francisco Neptalí Morales Serna⁴, María del Rosario Pacheco Marges⁵ y Emigdio Marín Enriquez⁶.

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa

juanmanuel_facimar@uas.edu.mx

[²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Mazatlán](#)

INTRODUCCIÓN

En los últimos veinte años, la producción acuícola ha aumentado considerablemente, ya que el comercio por su parte ha aumentado la demanda de productos generados por la acuicultura basados tanto en especies con alto valor como el salmón, o de bajo valor como la tilapia siendo esta última una de las especies de bajo valor más comercializada no solo a nivel nacional sino también a nivel interregional (FAO, 2014).

La tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* es un pez de origen africano el cual en las últimas décadas se ha introducido en diversas partes del mundo en las cuales las condiciones sean propicias para su cultivo. Su alta resistencia a enfermedades, fácil reproducción, fácil adaptabilidad a diferentes tipos de ambiente, fácil alimentación y tolerancia a diferentes calidades de agua son características favorables para la producción de tilapia. Los sistemas empleados actualmente para su cultivo van desde extensivos (rudimentarios) hasta granjas altamente tecnificadas (intensivos y superintensivos), la producción de tilapia es importante ya que se generan empleos, así como la producción de alimento de alta calidad para el ser humano (Vega-Villasante, 2010).

Dentro de los protozoarios parásitos de la familia Trichodinidae, el género más diverso es *Trichodina*, el cual comprende más de 300 especies (Asmat y Sultana, 2005; Tang, Zhao et al., 2013). La mayoría de estos suelen ser ectoparásitos de especies tanto de agua dulce como de agua marina. La infestación por tricodínidos está estrechamente ligada a las variables bióticas y abióticas del ambiente, incluyendo las características del hospedero y del huésped (Ozer, 2003).

La infestación masiva por las especies más patógenas de la familia Trichodinidae puede causar una enfermedad llamada tricodinosis (Durborow, 2003), provocando así la mortalidad de poblaciones de peces juveniles y adultos en el sistema de cultivo (Van As y Basson, 1987).

Las infecciones por monogenéos han sido también una de las principales amenazas para el cultivo de peces. Los monogenéos son un grupo de gusanos ectoparásitos pertenecientes a los Plathelminthes. Los monogenéos tienen un ciclo de vida directo y tiempos generacionales

cortos que les permite multiplicarse rápidamente dentro de las unidades de cultivo, llegando a causar grandes problemas respiratorios y osmorregulatorios en sus hospederos (Ogawa, 2015).

La proliferación de estos parásitos aumenta cuando los peces se cultivan intensivamente, ya que las altas densidades de siembra provocan el aumento de las poblaciones de los parásitos (García, 1993). Además, las deficientes prácticas de manejo y la falta de planes de bioseguridad según lo definido por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) juegan un papel muy importante en cuanto a la diseminación de este tipo de patógenos (Paredes-Trujillo, 2016), ya que, debido a esto, se pueden producir epizootias importantes además que puede causar altos niveles de mortalidad (García, 1993).

Entender la dinámica de las infecciones causadas por parásitos protozoarios y monogéneos en la tilapia del Nilo, permite contribuir a la mejora de las prácticas de manejo que se tienen regularmente en las granjas de estos peces. Por ello, el presente trabajo busca determinar la abundancia, prevalencia e intensidad de los parásitos en tilapias del Nilo (*O. niloticus*) cultivadas en granjas de Oaxaca, Guerrero y Chiapas.

ANTECEDENTES

En los estados de Oaxaca, Guerrero y Chiapas como en muchas otras partes del mundo donde la tilapia se ha introducido para la acuicultura, la deficiente aplicación de medidas de manejo ha llevado a la diseminación de parásitos.

La acuicultura es un sistema productivo que se quiere impulsar para mejorar el desarrollo socioeconómico en esta región ya que cuenta bajos índices de desarrollo humano (ADESUR, 2018).

En un estudio realizado por Oslad et al. (2013) en el cultivo de salmón en Noruega donde relacionan diferentes prácticas de manejo con la presencia del monogéneo *Gyrodactylus salaris* encontraron que la reutilización de equipos sin previa desinfección y el movimiento de maquinaria entre tanques propició la propagación de este parásito. Además, mencionan que los factores más importantes en cuanto la diseminación de este patógeno fueron la procedencia de los peces (ya que se argumenta que estaban posteriormente infectados) y la procedencia del agua que utilizaban.

Paredes-Trujillo et al. (2016) describieron la distribución geográfica de los parásitos protozoarios y metazoarios así como su relación con diferentes variables ambientales y de manejo en cultivos de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* en el estado de Yucatán, México. Estos autores examinaron 580 ejemplares provenientes de 29 granjas de dicho estado, registrando 11 especies de parásitos tanto protozoarios como metazoarios. Los resultados estadísticos demostraron que las altas concentraciones de nitritos, de amonio y la baja periodicidad con la que se hacen recambios de agua fueron unos de los factores más importantes en cuanto a la presencia de los parásitos. Además, encontraron que la capacidad del tanque, la falta de programas de cuarentena y el no uso de tratamientos profilácticos estaba ligada a la abundancia media de estos patógenos. Con la ayuda de los

mapas lograron identificar el agrupamiento de los parásitos y así conocer las potenciales zonas de riesgo, encontrando un agrupamiento en la zona de costa de Yucatán.

Planteamiento del problema

El cultivo de peces incluyendo a la tilapia puede ser afectado negativamente por parásitos protozoarios y metazoarios. Por lo tanto, es importante monitorear continuamente la presencia de parásitos y su relación con las prácticas de sanidad y de manejo, particularmente en granjas que tengan deficiencia en estas prácticas ya que pueden propiciar la proliferación de estos agentes patógenos, convirtiéndose en un problema para los productores. Con base en esta información se podrían emitir recomendaciones sanitarias que impactarán favorablemente en la producción de tilapia.

Pregunta de investigación

¿Existe una relación entre la calidad del agua y las prácticas de manejo con la presencia de parásitos en la tilapia del *Nilo O. niloticus* cultivada en Unidades de Producción Acuícola de Oaxaca, Guerrero y Chiapas?

HIPÓTESIS

Las deficientes condiciones del medio acuático aunado a las malas prácticas de manejo y bioseguridad propician la proliferación y diseminación de agentes patógenos como los parásitos.

Objetivo general

Determinar la prevalencia, intensidad y abundancia promedio de parásitos en la tilapia del Nilo en granjas de Oaxaca, Guerrero y Chiapas.

Objetivos particulares

Identificar taxonómicamente las especies de parásitos de la tilapia.

Relacionar las variables ambientales y de manejo con la intensidad, prevalencia y abundancia media de los parásitos de la tilapia.

Describir la distribución geográfica de los parásitos de la tilapia.

MÉTODOS

Se capturaron 15 peces de 12 UPAs de tilapia del Nilo en los estados de Oaxaca, Guerrero y Chiapas con una red de cuchara de malla fina. A los peces obtenidos se les realizaron las biometrías correspondientes (talla y peso), luego se hizo un frotis o raspado con la ayuda de un bisturí para obtener los parásitos de la piel, posteriormente la muestra se distribuyó homogéneamente en un portaobjetos limpio al que previamente se le añadió una gota de agua destilada y se dejó secar al aire. Posteriormente los peces fueron sacrificados y se disectaron las branquias y las aletas para después fijarlas y preservarlas en alcohol al 96% para su posterior análisis en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán.

En cada granja visitada se midió la temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg/ml) y pH del agua empleando una sonda multisensor YSI. Además, se determinarán las concentraciones de nitritos, nitratos, amonio y alcalinidad total empleando un fotómetro YSI95000. También se realizó una encuesta al personal de la granja con respecto a las medidas de manejo que se tienen en la granja.

Identificación de monogéneos

Las branquias obtenidas anteriormente se observarán bajo el microscopio para aislar los parásitos, una vez colectados se cuantificarán y se pondrán en un tubo ependorff con alcohol al 96%. Posteriormente se pondrá un parásito por portaobjetos para continuar al método de digestión enzimática.

Al parásito ya montado en el portaobjetos se le agregará 0.3 microlitros de proteinasa K. La digestión se observará de manera continua y cuidadosa en un estereoscopio hasta que el tejido haya sido digerido lo suficiente para observar las estructuras duras del parásito.

Una vez digerido el tejido del parásito se le agregará 3. microlitros de solución "STOP" para detener dicho proceso, se le colocará un cubreobjetos a la muestra y se sellará con barniz, se procederá a colocar el portaobjetos en una incubadora Felisa a 40° C en el laboratorio para su preservación.

Se realizarán dibujos y fotografías de los órganos para realizar un análisis morfométrico para comparar con trabajos previos y así ubicar a los organismos taxonómicamente.

Identificación de representantes del género trichodinas

Para llevar a cabo la identificación de parásitos tricodínidos se utilizarán dos tipos de tinciones:

a) Tinción argéntica de Klein

Las muestras secadas al aire obtenidas anteriormente se cubrirán completamente con Nitrato de plata al 2% durante un periodo de tiempo aproximado de 20 minutos, después de esto la muestra se enjuagará con agua destilada y se colocará hacia arriba en una caja petri con fondo blanco y se dejará secar por media hora en luz UV.

Por último, se limpiarán los extremos y se cubrirá la muestra con un cubreobjetos en Bálsamo de Canadá para posteriormente ser observada al microscopio.

b) Tinción de Hematoxilina de Harris

Las muestras ya montadas en el portaobjetos se dejarán reposar en Hematoxilina de Harris por un periodo de tiempo de cinco minutos, una vez pasado el tiempo se removerán los excesos con agua corriente por tres minutos, pasado el tiempo se le agregará Nitrato de plata por 10 minutos y se lavará con agua destilada, posteriormente se deshidrata en una serie gradual de alcoholes al 50, 70 y 90% dejando tres minutos en cada alcohol. Después se sumergirá la muestra en Xileno por tres minutos; se dejará secar a luz UV por 45 minutos al sol de cuatro a seis horas y se montará en Bálsamos de Canadá.

A un aumento de 1000 X se observará cuidadosamente la forma de los dentículos de los organismos; cuchilla y rayo, el grado de impregnación argéntica del centro del disco adhesivo y la presencia/ausencia de estructuras de quitina, etc. También se observará el ángulo descrito por la espiral adoral. Todas estas características se compararán con las descripciones de Lom y Dyková (1992) y se harán las mediciones correspondientes para hacer la ubicación taxonómica de las especies.

En las láminas teñidas con Hematoxilina de Harris se buscarán aquellos organismos cuyas características de los dentículos, forma y posición del macro y micro núcleo sean las mismas.

Para los tricodinidos de mayor variabilidad intraespecífica se aplicará la metodología según Van As y Basson (1989).

La cuantificación de organismos se llevará a cabo por lámina, se revisarán un total de 25 campos en la muestra ya teñida y montada en un microscopio a un objetivo de 200 X.

Referencias

Asmat, GSM. y Sultana, N. (2005). Cuatro nuevas especies de Trichodina Ehrenberg, 1830. (Ciliophora: Trichodinidae) de peces de Bangladesh. *Pakistán Journal de Ciencias biológicas*, 8, 895-900.

Durborow y R. M. (2003) Parasitos protozoarios. Publicación del Centro Regional de Acuicultura del Sur 4701.

FAO, (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Roma. 250 págs. (Disponible también en: <http://www.fao.org/3/a-i3807s.pdf>).

García-Marquéz, L.J., Osorio-Sarabia, D y Constantino, F. (1993). Prevalencia de los parásitos y las alteraciones histológicas que producen a las tilapias de la laguna Amela, Tecomán, Colima. *Veterinaria México*, 24, 199-204.

Ogawa, K. (2015). Diseases of cultured marine fishes caused by Platyhelminthes (Monogenea, Digenea, Cestoda). *Parasitology*, 142, 178-195.

Olstad, K. (2013). Invasive alien species fact sheet *Gyrodactylus salaris*. Base en línea de la red europea de especies exóticas invasoras. Disponible en: https://www.nobanis.org/globalassets/speciesinfo/g/gyrodactylus-salaris/gyrodactylus_salaris.pdf.

Ozer, A. (2003). The Occurrence of *Trichodina domerguei* Wallengren, 1897 and *Trichodina tenuidens* Fauré-Fremiet, 1944 (Peritrichia) on Three-spined Stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., 1758 found in a Brackish and Freshwater Environment. *Acta Protozoology*, 42, 41–46.

Paredes-Trujillo A, Velázquez-Abunader I, Torres-Irineo E, Romero D y Vidal-Martínez VM. (2016). Geographical distribution of protozoan and metazoan parasites of farmed Nile tilapia

Oreochromis niloticus (L.) (Perciformes: Cichlidae) in Yucatán, México. *Parasit Vectors*, 016, 1332-09.

Van As, J. G. y Basson, L. (1987). Especificidad del hospedador de ectoparásitos tricodínidos de peces de agua dulce. *Parasitology Today*, 3, 88-9.

Vega-Villasante, F.F., Cortés-Lara, M.C., Zuñiga-Medina, L.M., Jaime-Caballos, B., Galindo-López, J., Mao, E.R y Nolasco-Soria, H. (2010). Cultivo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) a pequeña escala ¿alternativa alimentaria para familias rurales y periurbanas de México? *Revista Electronica de Veterinaria*, 11, 1695-7504.

EVALUACIÓN DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS PARA REDUCIR *Salmonella* spp Y *Escherichia coli* O157:H7 EN EL TÉ DE COMPOSTA.]

Martha Lidia Gutiérrez Pérez ¹, PEDRO SÁNCHEZ PEÑA², NOHELIA CASTRO DEL CAMPO³, RAYMUNDO MEDINA LÓPEZ², SIXTO VELARDE FÉLIX⁴.

¹ESTUDIANTE DE DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS, FACULTAD DE AGRONOMÍA. MLGUTIERREZ1826@GMAIL.COM, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA, ²FACULTAD DE AGRONOMÍA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA, ³CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C. ⁴INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS.

RESUMEN

LA COMPOSTA Y SUS DERIVADOS SON UTILIZADOS COMO FERTILIZANTES EN CULTIVOS CONVENCIONALES Y ORGÁNICOS, DONDE EL ESTIÉRCOL DE RUMIANTES ES LA PRINCIPAL FUENTE PARA LA ELABORACIÓN DE DICHS FERTILIZANTES, Y SE HA ASOCIADO COMO FUENTES POTENCIALES DE PATÓGENOS PARA LA CONTAMINACIÓN DE ESTOS CULTIVOS. LOS BACTERIÓFAGOS OFRECEN LA POSIBILIDAD DE ENFOQUES ALTERNATIVOS SOSTENIBLES CONTRA LOS PATÓGENOS BACTERIANOS CON LA FLEXIBILIDAD DE SER APLICADOS CON FINES DE CONTROL BIOLÓGICO. EL OBJETIVO DE ESTE ESTUDIO FUE AISLAR BACTERIÓFAGOS DE *ESCHERICHIA COLI* DE DIVERSOS ORÍGENES. LOS BACTERIÓFAGOS AISLADOS MOSTRARON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI*, PROVENIENTES DE PRODUCTOS FRESCOS DE CARNE, AL PRODUCIR PLACAS CLARAS DE LISIS EN EL MEDIO. POR LO TANTO, LOS BACTERIÓFAGOS AISLADOS SON CONSIDERADOS COMO POTENCIAL CANDIDATO PARA CONTROLAR LA CONTAMINACIÓN DE BACTERIAS EN LOS FERTILIZANTES.

ABSTRACT

COMPOST AND ITS DERIVATIVES ARE USED AS FERTILIZERS IN CONVENTIONAL AND ORGANIC CROPS, WHERE RUMINANT MANURE IS THE MAIN SOURCE FOR THE ELABORATION OF SUCH FERTILIZERS, AND HAS BEEN ASSOCIATED AS POTENTIAL SOURCES OF PATHOGENS FOR THE CONTAMINATION OF THESE CROPS. BACTERIOPHAGES OFFER THE POSSIBILITY OF ALTERNATIVE SUSTAINABLE APPROACHES AGAINST BACTERIAL PATHOGENS WITH THE FLEXIBILITY OF BEING APPLIED FOR BIOLOGICAL CONTROL PURPOSES. THE OBJECTIVE OF THIS STUDY WAS TO ISOLATE BACTERIOPHAGES OF *ESCHERICHIA COLI* OF DIVERSE ORIGINS. THE ISOLATED BACTERIOPHAGES SHOWED ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST *ESCHERICHIA COLI* STRAINS, FROM FRESH MEAT PRODUCTS, BY PRODUCING CLEAR LYSIS PLATES IN THE MEDIUM. THEREFORE, ISOLATED BACTERIOPHAGES ARE CONSIDERED AS A POTENTIAL CANDIDATE TO CONTROL THE CONTAMINATION OF BACTERIA IN FERTILIZERS.

PALABRAS CLAVE: BACTERIÓFAGOS, *ESCHERICHIA COLI*, *SALMONELLA SPP*, CONTROL BIOLÓGICO, COMPOSTA.

INTRODUCCIÓN

LA AGRICULTURA ORGÁNICA ES UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN SOSTENIBLE QUE HACE ÉNFASIS EN LA SANIDAD DEL ALIMENTO, QUE HA DESPERTADO GRAN INTERÉS, NO SOLO EN LOS SECTORES QUE ESTÁN RELACIONADOS CON EL SECTOR AGROPECUARIO Y EN LA ECONOMÍA RURAL, SINO TAMBIÉN EN AMPLIOS SECTORES DE LA SOCIEDAD. EL AUUGE DE ÉSTA SE HA DEBIDO EN GRAN MEDIDA A LA PREOCUPACIÓN CRECIENTE DE LA POBLACIÓN CON RELACIÓN A LA INGESTA DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS INOCUOS, SANOS, DE LOS CUALES SE CONOZCA SU ORIGEN Y TRAYECTORIA REAL, ASÍ COMO LA MAYOR CONCIENCIA POR LA CONSERVACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE (ZAMORANO, 2005).

UNA TENDENCIA EN LA AGRICULTURA ES LA BÚSQUEDA DE ALTERNATIVAS DE DESARROLLO SOSTENIBLE, DONDE PROCESOS COMO EL COMPOSTAJE Y LOS PRODUCTOS DERIVADOS DEL MISMO HAN ADQUIRIDO UN ESPECIAL AUUGE POR SU CAPACIDAD PARA RESTITUIR AL SUELO UNA CIERTA PROPORCIÓN DE MATERIA ORGÁNICA PARA MEJORAR SUS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS, LAS CUALES SE HAN VISTO DETERIORADAS POR EL USO CONTINUO Y EXCLUSIVO DE FERTILIZANTES MINERALES BAJO CONDICIONES INTENSAS DE CULTIVO (CASTELO-GUTIÉRREZ *ET AL.*, 2016).

DIVERSOS INVESTIGADORES A NIVEL MUNDIAL HAN GENERADO NUMEROSAS EVIDENCIAS RESPECTO A LOS BENEFICIOS, VENTAJAS Y RAZONES RELACIONADAS CON EL EMPLEO DE LOS ABONOS ORGÁNICOS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ORGÁNICA. NIETO *ET AL.* (2002) RESALTAN QUE LA IMPORTANCIA DE ESTE TIPO DE MATERIALES RADICA EN LA INCORPORACIÓN DE FERTILIZANTES Y ABONOS ORGÁNICOS (ESTIÉRCOLES Y COMPOSTAS) CON FINES DE BIO-REMEDIACIÓN DE SUELOS AGRÍCOLAS, QUE HAN SIDO DETERIORADOS POR EL USO EXCESIVO DE AGROQUÍMICOS Y SU SOBRE-EXPLOTACIÓN. LAS CONSECUENCIAS DIRECTAS DE ESTOS DOS ÚLTIMOS EVENTOS SON LA PÉRDIDA DE LA MATERIA ORGÁNICA, FERTILIDAD Y LA CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS Y DE LOS MANTOS FREÁTICOS, CUYA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA PUEDE TAMBIÉN ESTAR CONTAMINADA.

CASTELO-GUTIÉRREZ *ET AL.* (2016) DETERMINARON EL EFECTO DE LA COMPOSTA, TÉ DE LOMBRICOMPOSTA, EXTRACTO DE COMPOSTA Y SU COMBINACIÓN MÁS LA ADICIÓN DE UNA FRACCIÓN INORGÁNICA (UREA), CONTRA UN TESTIGO CONVENCIONAL, SOBRE LAS PROPIEDADES DEL SUELO Y PARÁMETROS DE RENDIMIENTO DE TOMATE BAJO CONDICIONES DE CASA SOMBRA. LA COMBINACIÓN DEL TÉ DE LOMBRICOMPOSTA, EXTRACTO DE COMPOSTA Y COMPOSTA, INCREMENTARON LA MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO, LO QUE

FAVORECE LA RETENCIÓN DE HUMEDAD DEBIDO A LA FORMACIÓN DE AGREGADOS. CONCLUYERON QUE LOS MATERIALES ORGÁNICOS SOLOS O EN COMBINACIÓN CON FERTILIZANTES INORGÁNICOS SON CAPACES DE PRODUCIR EL MISMO EFECTO EN RENDIMIENTO, Y ADEMÁS MEJORAR LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL SUELO.

LAS ALTERNATIVAS ORGÁNICAS EN LA PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS SON UNA ESTRATEGIA PARA PRODUCIR ALIMENTOS LIBRES DE CONTAMINACIÓN QUÍMICA QUE PONEN EN PELIGRO LA SALUD HUMANA. VÁZQUEZ *ET AL.* (2016) EVALUARON DIFERENTES DOSIS DE COMPOSTA MÁS TÉ DE COMPOSTA EN VARIEDAD DE TOMATE INDETERMINADO, ENCONTRANDO QUE EL TRATAMIENTO CON 6 TON HA⁻¹ PROMOVIÓ MAYOR ALTURA DE PLANTA. EL TÉ DE COMPOSTA CREA UN EFECTO SINÉRGICO POR LO QUE PUEDE USARSE COMO FERTILIZANTE PORQUE CONTIENE NUTRIENTES SOLUBLES Y MICROORGANISMOS BENEFICIOSOS QUE PROMUEVEN EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS.

EL EMPLEO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS CONLLEVA EL RIESGO DE INTRODUCIR MICROORGANISMOS PATÓGENOS A LAS HORTALIZAS. ESTOS PROVIENEN DEL ABONO ANIMAL UTILIZADO, DIVERSOS DESECHOS ORGÁNICOS, BIOSÓLIDOS PROVENIENTES DE DESECHOS HUMANOS Y OTROS MENOS PELIGROSOS COMO MELAZAS Y VEGETALES SECOS. EL PROCESO DE COMPOSTAJE ES UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO EXOTÉRMICO A TRAVÉS DEL CUAL SE ESTABILIZA LA MATERIA ORGÁNICA HASTA LA GENERACIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS ELEMENTALES FÁCILMENTE APROVECHABLES POR LAS PLANTAS. EL CALOR GENERADO EN EL CENTRO DE LA MEZCLA DE MATERIALES INACTIVA LOS AGENTES PATÓGENOS MICROBIANOS; LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS PRACTICADOS EN EL PRODUCTO FINAL (CORRECTAMENTE ALMACENADO) DEBEN APLICARSE PARA VERIFICAR LA EFICIENCIA DEL TRATAMIENTO (FERNÁNDEZ, 2012).

LOS MICROORGANISMOS PATÓGENOS PUEDEN SOBREVIVIR EN EL PROCESO DE COMPOSTAJE EN PEQUEÑAS CANTIDADES Y, POSTERIORMENTE, VOLVER A CRECER A NIVELES ELEVADOS EN CONDICIONES FAVORABLES. EN GENERAL, EL RIESGO DE PATÓGENOS EN LA COMPOSTA ES MUY BAJO; SIN EMBARGO, ALGUNAS CÉLULAS PUEDEN SOBREVIVIR DURANTE EL COMPOSTAJE O SER INTRODUCIDAS EN LA COMPOSTA TERMINADA, PUEDEN MULTIPLICARSE Y AUMENTAR EL RIESGO DE CONTAMINACIÓN DE LOS CULTIVOS CUANDO LA COMPOSTA SE USA COMO FERTILIZANTE ORGÁNICO (KIM *ET AL.*, 2009).

KIM *ET AL.* (2009) INVESTIGARON EL POTENCIAL DE REBROTE DE *SALMONELLA* SPP, *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 Y *LISTERIA MONOCYTOGENES* EN EXTRACTOS DE COMPOSTA. SE INOCULARON CÓCTELES DE CINCO CEPAS (10³ UFC ML⁻¹) RESISTENTES A LA RIFAMPICINA A DIFERENTES PROPORCIONES DEL EXTRACTO, POSTERIORMENTE SE ALMACENARON A 35°C Y 22°C, DURANTE 7 DÍAS. PARA LOS TRES PATÓGENOS, LA INCUBACIÓN A 22°C PROPORCIONÓ MEJORES

CONDICIONES PARA EL REBROTE QUE A 35°C. LOS TRES PATÓGENOS VUELVEN A CRECER INCLUSO EN EL EXTRACTO DE COMPOSTA ESTÉRIL MÁS DILUILO CON POTENCIALES DE CRECIMIENTO QUE OSCILAN ENTRE 2.30 Y 3.59 LOG UFC ML⁻¹. ESTOS RESULTADOS DEMOSTRARON QUE EL EXTRACTO DE COMPOSTA CONTENÍA SUFICIENTES NUTRIENTES PARA EL REBROTE DE PATÓGENOS.

INGRAM Y MILLNER, (2007) REVELARON QUE EL TÉ DE COMPOSTA (TC) SUPLEMENTADO CON UNA SOLUCIÓN NUTRITIVA COMERCIALMENTE DISPONIBLE COMO MEZCLA DE MELAZA, GUANO DE MURCIÉLAGO, GUANO DE AVES MARINAS, ALGAS MARINAS SOLUBLES, ÁCIDO CÍTRICO, SALES DE EPSOM, MINERALES ANTIGUOS CON COSTRA Y CARBONATO DE CALCIO Y LA MEZCLA DE ALGAS SOLUBLES EN POLVO, ÁCIDOS HÚMICOS LÍQUIDOS Y POLVO DE ROCA GLACIAL CAUSARON UN AUMENTO POBLACIONAL DE *E. COLI* O157:H7, *SALMONELLA* ENTERITIDIS Y COLIFORMES FECALES EN 1 A 4 LOG UFC G⁻¹, MIENTRAS QUE EL TÉ DE COMPOSTA SIN SUPLEMENTOS NO GENERÓ EL CRECIMIENTO DE AMBOS PATÓGENOS. SI LOS PATÓGENOS HUMANOS ESTÁN PRESENTES INCLUSO EN PEQUEÑAS CONCENTRACIONES EN LA COMPOSTA UTILIZADA PARA PREPARAR TC Y SI LAS CONDICIONES DE PRODUCCIÓN DE TC PERMITEN QUE ESTOS PATÓGENOS CREZCAN, ENTONCES LA PROBABILIDAD DE QUE LOS CONTAMINANTES SE RETENGAN EN EL FOLLAJE AUMENTA SUSTANCIALMENTE CUANDO EL TC SE USA ASPERJADO AL FOLLAJE. POR LO TANTO, EL CONTROL DEL CRECIMIENTO DE PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR LOS ALIMENTOS DURANTE LA PRODUCCIÓN DE TC ES ESENCIAL PARA REDUCIR EL RIESGO POTENCIAL DE LA INTRODUCCIÓN DE ESTOS PATÓGENOS EN LA ACTIVIDAD AGRÍCOLA A TRAVÉS DE LA APLICACIÓN DEL TC. EL CONTROL DE CALIDAD PARA LA COMPOSTA, LOS PROCESOS DE COMPOSTAJE Y PRODUCCIÓN DE TC AYUDARÍAN A ASEGURAR LA INOCUIDAD DE CULTIVOS DE PRODUCTOS FRESCOS.

EN LA ACTUALIDAD LA INOCUIDAD ES UNO DE LOS COMPONENTES MÁS IMPORTANTES EN OPERACIONES DE COMERCIO INTERNACIONAL DE ALIMENTOS. DATOS RECIENTES INDICAN QUE EL COSTO DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS EN EEUU ES DE AL MENOS ENTRE 3000 Y 7000 MILLONES DE DÓLARES CADA AÑO, POR LO QUE ES IMPORTANTE ASEGURARSE DE QUE UNA COMPRA DE ALIMENTOS NO RESULTE EN MAYORES COSTOS POSTERIORES SI ESTE SE ENCONTRABA CONTAMINADO CON ALGÚN PELIGRO BIOLÓGICO, QUÍMICO O FÍSICO (MENDOZA, 2011).

EL CENTRO PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES DE LOS ESTADOS UNIDOS DETERMINÓ LA MAGNITUD DEL PROBLEMA DE LA CONTAMINACIÓN DE LOS ALIMENTOS, CONSIGNANDO LA OCURRENCIA EN ESE PAÍS DE 98 BROTES DE ENFERMEDADES RELACIONADOS AL CONSUMO DE LOS ALIMENTOS DURANTE 1990 A 1999, SIENDO LOS PRODUCTOS MÁS FRECUENTEMENTE AFECTADOS LOS GERMINADOS DE ALFALFA, JUGOS SIN PASTEURIZAR, LECHUGA, TOMATES, ENSALADAS VERDES, MELONES, REPOLLOS, PRINCIPALMENTE POR *ESCHERICHIA*

COLI O157:H7, *SALMONELLA*, *SHIGELLA*, *CYCLOSPORA CAYETANENSIS* Y EL VIRUS A DE LA HEPATITIS (SAPERS, 1999).

LOS BROTES DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 ASOCIADOS CON EL CONSUMO DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS HAN LLAMADO LA ATENCIÓN SOBRE LOS ABONOS DE GANADO COMO POSIBLES FUENTES DE PATÓGENOS PARA LA CONTAMINACIÓN DE ESTOS CULTIVOS. LOS PROCEDIMIENTOS PARA EL RECuento DE *E. COLI* O157:H7 SON NECESARIOS PARA EVALUAR LOS RIESGOS DE TRANSMISIÓN DE ABONOS Y SUS SUBPRODUCTOS. EL MÉTODO DE ENCHAPADO EN ESPIRAL DIRECTO EN CHROMAGAR O157 ES EFICAZ PARA ESTIMAR LOS NIVELES DE *E. COLI* O157:H7 EN UNA VARIEDAD DE ABONOS HASTA UN LÍMITE INFERIOR DE DETECCIÓN DE 200 UFC G⁻¹ (BERRY Y WELLS, 2008).

ESTRADA-ACOSTA *ET AL.* (2014) EVALUARON 36 MUESTRAS DE AGUA DE RIEGO Y 36 MUESTRAS DE TOMATE, DE LA REGIÓN CENTRAL DE SINALOA, MÉXICO. DETECTARON UNA ALTA INCIDENCIA DE SEROTIPOS DE *SALMONELLA* EN EL AGUA DE RIEGO (36%), MIENTRAS QUE SOLO 5.5% EN LAS MUESTRAS DE TOMATE.

LA DIVERSIDAD DE SEROTIPOS DE *SALMONELLA* EN CUATRO DIFERENTES REGIONES DEL VALLE DE CULIACÁN (SINALOA, MÉXICO) A SIDO REPORTADA POR LÓPEZ-CUEVAS *ET AL.* (2009), QUIENES MOSTRARON LA PRESENCIA DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM, *SALMONELLA* GIVE, *SALMONELLA* ANATUM, *SALMONELLA* INFANTIS, *SALMONELLA* ORANIEMBURG, *SALMONELLA* MINNESOTA Y *SALMONELLA* AGONA EN EL 39% DE AGUA DE IRRIGACIÓN, AL RESPECTO EXISTEN DIVERSOS ESTUDIOS QUE MUESTRAN EL USO DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS COMO UN MÉTODO DE CONTROL BIOLÓGICO; EL BACTERIÓFAGO P22 MOSTRÓ CONTROL EN *SALMONELLA* CON UNA REDUCCIÓN BACTERIANA MEDIA DE HASTA 3.02 LOG₁₀ UFC/TOMATE (LÓPEZ-CUEVAS *ET AL.*, 2016). ASÍ MISMO, LÓPEZ-CUEVAS *ET AL.* (2011) AISLARON 4 FAGOS DE HECES DE GANADO Y AVES DE CORRAL POR SU CAPACIDAD DE LISAR SEROTIPOS DE *SALMONELLA* Y *E. COLI* O157:H7 CON EFECTO LÍTICO DE AL MENOS EL 70% DE LAS 234 CEPAS UTILIZADAS.

LA APLICACIÓN DE 10⁷ UFP ML⁻¹ DEL FAGO SRG1 AISLADO DE AGUAS RESIDUALES, A TRES DIFERENTES COMPOSTAS DE GANADO, Y UNA MUESTRA DE SUELO CON 10⁸ UFC ML⁻¹ DEMOSTRARON LA ERRADICACIÓN COMPLETA NO SOLO DE BACTERIAS INOCULADAS EXPERIMENTALMENTE SINO TAMBIÉN DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* DE ORIGEN NATURAL. SE OBSERVÓ UNA REDUCCIÓN BACTERIANA DEL 50% EN MUESTRAS DE SUELO INOCULADAS EXPERIMENTALMENTE. EL AISLAMIENTO DE BACTERIÓFAGOS CONTRA *ENTEROCOCCUS* RESISTENTES A VANCOMYCIN ES UN PASO IMPORTANTE PARA EL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PARA CONTROLAR LAS INFECCIONES POR *ENTEROCOCCUS* (ULLAH *ET AL.*, 2017).

HERINGA *ET AL.* (2010) AISLARON UNA MEZCLA DE 33 BACTERIÓFAGOS DE AGUAS

RESIDUALES PARA CONTROLAR DIFERENTES SEROTIPOS DE *SALMONELLA*. EL RANGO DE HOSPEDEROS SE DETERMINÓ EN 53 CEPAS DE *SALMONELLA*. SIN EMBARGO, SOLO LA MEZCLA DE 5 FAGOS FUERON CAPACES DE LISAR O INFECTAR 20 DE LAS 53 CEPAS DE *SALMONELLA*. EL TRATAMIENTO CON BACTERIÓFAGOS DIO COMO RESULTADO UNA REDUCCIÓN DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM SUPERIOR A 2 UNIDADES LOGARÍTMICAS EN 4 H. DEBIDO A LA DIVERSIDAD DE LOS SEROTIPOS DE *SALMONELLA* Y LAS PROPIEDADES ESPECÍFICAS DEL HUÉSPED SE REQUIERE UNA MEZCLA DE MÚLTIPLES BACTERIÓFAGOS PARA EL TRATAMIENTO DE *SALMONELLA*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

EL ESTIÉRCOL DE RUMIANTES ES UNA FUENTE PRIMARIA DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 QUE CONTAMINA LA COMPOSTA ELABORADA PARA FERTILIZANTES. EL USO EXCESIVO DE ANTIBIÓTICOS EN HUMANOS, VETERINARIOS Y PRÁCTICAS AGRÍCOLAS A LO LARGO DE DÉCADAS Y SU LIBERACIÓN CONTINUA COMO EFLUENTES DE LAS PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL MEDIO AMBIENTE REPRESENTAN UNA IMPORTANTE AMENAZA PARA LA SALUD PÚBLICA. LOS BACTERIÓFAGOS OFRECEN LA POSIBILIDAD DE ENFOQUES ALTERNATIVOS SOSTENIBLES CONTRA LOS PATÓGENOS BACTERIANOS COMO *E. COLI* Y *SALMONELLA* SPP, CON LA FINALIDAD DE SER APLICADOS CON FINES DE CONTROL BIOLÓGICO.

HIPÓTESIS

EL USO DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS REDUCE LA PRESENCIA DE PATÓGENOS COMO *SALMONELLA* SPP Y *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 EN EL TÉ DE COMPOSTA.

OBJETIVO GENERAL

OBTENER UN COCTEL DE BACTERIÓFAGOS LÍTICOS PARA EL CONTROL DE *SALMONELLA* SPP Y *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 EN EL TÉ DE COMPOSTA.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aislar bacteriófagos líticos a partir de muestras ambientales y comprobar su funcionalidad mediante ensayos de doble capa.
2. Aislar y caracterizar, mediante pruebas bioquímicas y moleculares, serotipos de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* O157:H7 en el Té de composta.
3. Caracterizar biológica, morfológica y molecularmente bacteriófagos aislados para el control de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* O157:H7 en el Té de composta.

4. Evaluar el efecto de la aplicación de un coctel de bacteriófagos líticos en el Té de composta.

MATERIALES Y MÉTODOS

CULTIVO BACTERIANO. LA BACTERIA *ESCHERICHIA COLI* O157 (EC-48) FUE PROPORCIONADA POR EL LABORATORIO NACIONAL PARA LA INVESTIGACIÓN EN INOCUIDAD ALIMENTARIA (LANIIA CIAD, SINALOA, MÉXICO), PARA LOS ENSAYOS DE AISLAMIENTO Y RECuento EN PLACA. TODOS LOS CULTIVOS BACTERIANOS SE CULTIVARON EN MEDIO TSB (BD BIOXON, MÉXICO) A 37°C DURANTE 24 H.

AISLAMIENTO DE BACTERIÓFAGOS. LOS FAGOS SE AISLARON DE TÉ DE COMPOSTA, TÉ DE LOMBRICOMPOSTA, BIOSÓLIDOS, SUELO AGRÍCOLA, AGUA ESTANCADA, PRODUCTOS DE CARNE FRESCA Y HECES DE GANADO. TERMINADO EL TIEMPO DE INCUBACIÓN, SE OBSERVÓ EN LAS CAJAS LA PRESENCIA DE PLACAS. ASÍ MISMO SE UTILIZÓ UN CONTROL POSITIVO, EL BACTERIÓFAGO AV-05, PROPORCIONADO POR EL LABORATORIO NACIONAL PARA LA INVESTIGACIÓN EN INOCUIDAD ALIMENTARIA (LANIIA CIAD, SINALOA, MÉXICO).

PURIFICACIÓN. LA PRESENCIA DE FAGOS SE DETERMINÓ CON LA PRUEBA DE SPOT TEST, OBSERVÁNDOSE LA APARICIÓN DE PLACAS DE LISIS EN EL MEDIO DE CULTIVO.

DETERMINACIÓN DEL TÍTULO. LA CONCENTRACIÓN DE FAGOS SE REALIZARÁ CON LA TÉCNICA DE LA DOBLE CAPA DE AGAR. SE EFECTUARÁN DILUCIONES SERIADAS DE LOS LISADOS DE FAGOS. LA CONCENTRACIÓN DE FAGOS SE EXPRESARÁ COMO UNIDADES FORMADORAS DE PLACAS POR MILILITRO (UFP).

RANGO DE HOSPEDEROS. EL RANGO DE HOSPEDEROS DE LOS FAGOS AISLADOS SE DETERMINARÁ UTILIZANDO VARIAS ESPECIES BACTERIANAS *SALMONELLA* SAINTPAUL, *S. ORANIENBURG*, *S. MONTEVIDEO*, *S. ANATUM*, *S. POLLORUM*, *S. MINNESOTA*, *ESCHERICHIA COLI* O157:H7, POR EL MÉTODO DESCRITO POR LÓPEZ-CUEVAS *ET AL.* (2011), SE DETERMINARÁ EN FUNCIÓN DEL PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD BACTERIANA A CADA FAGO. LA CURVA DE CRECIMIENTO SE DETERMINARÁ DE UN SOLO PASO.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE FAGOS. SE UTILIZARÁN TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR CON EL FIN DE DETERMINAR EL TIPO DE ÁCIDO NUCLEICO DE LOS FAGOS AISLADOS. SE EXTRAERÁ EL DNA POR LA METODOLOGÍA DESCRITA POR LÓPEZ-CUEVAS *ET AL.* (2011).

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE FAGOS. SE REALIZARÁ MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN USANDO TINCIÓN NEGATIVA CON ACETATO DE URANILO. LAS IMÁGENES DE LOS BACTERIÓFAGOS SE TOMARÁN EN

UN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRASMISIÓN JEM-100CX OPERANDO A 100KV A DIVERSAS MAGNIFICACIONES.

EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD LÍTICA DE LOS BACTERIÓFAGOS CONTRA *SALMONELLA SPP* Y *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 EN EL TÉ DE COMPOSTA. CON EL FIN DE EVALUAR LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE LOS FAGOS EN ESTUDIO SE DESARROLLARÁ UN EXPERIMENTO *IN VITRO*. LAS MUESTRAS DEL TÉ DE COMPOSTA SE EXTRAERÁN ASÉPTICAMENTE DESDE EL CENTRO DE CADA PILETA A 10 CM POR DEBAJO DE LA SUPERFICIE DEL LÍQUIDO. LAS MUESTRAS SE ALMACENARÁN A 4°C DURANTE LA NOCHE ANTES DEL ANÁLISIS. SE TRANSFERIRÁN EN MATRACES CON TÉ DE COMPOSTA, EL PATÓGENO A UNA CONCENTRACIÓN 1.5×10^8 UFC ML⁻¹. EL TRATAMIENTO 1 CONSISTIRÁ EN TÉ DE COMPOSTA + *E. COLI* + FAGOS, TRATAMIENTO 2; TÉ DE COMPOSTA + *SALMONELLA* + FAGOS, TRATAMIENTO 3; TÉ DE COMPOSTA + *E. COLI* + *SALMONELLA* + FAGOS Y EL TRATAMIENTO 4 SERÁ EL CONTROL. EL BACTERIÓFAGO EN ESTUDIO SE INOCULARÁ INDIVIDUALMENTE EN LOS CULTIVOS BACTERIANOS A UNA MOI TEÓRICA DE 100 Y 1000 (POR DUPLICADO).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO. LA SOBREVIVENCIA DE *SALMONELLA SPP*, *E. COLI* Y DEL BACTERIÓFAGO EN EL TÉ DE COMPOSTA SERÁ DETERMINADA POR UN DISEÑO DE BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR. LA EFICIENCIA DEL BACTERIÓFAGO EN LA REDUCCIÓN DE *SALMONELLA SPP* Y *E. COLI* EN EL TÉ DE COMPOSTA SE EVALUARÁ CON UN DISEÑO DE 3 BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR. EL ANÁLISIS NORMAL DE VARIANZA (ANOVA) Y LA PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE MEDIAS SE REALIZARÁ POR MEDIO DE LA PRUEBA DE TUKEY, LA DIFERENCIA CON UN $\alpha \leq 0.05$ SERÁ CONSIDERADA SIGNIFICATIVA. EL ANÁLISIS DE DATOS SE REALIZARÁ UTILIZANDO EL PAQUETE ESTADÍSTICO MINITAB VERSIÓN 14 (MINITAB INC., STATE COLLEGE, PA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron 10 muestras de heces frescas de ganado vacuno, té de composta, té de lombricomposta, suelo agrícola, agua estancada, biosólidos y productos frescos de carne para aislar bacteriófagos con un efecto lítico contra *Escherichia coli*. Los bacteriófagos aislados de muestras de productos frescos de carne se observaron UFP (Unidades formadoras de placa) de forma circular (Figura 1), claras y de tamaños que oscilaron de 0.5 a 1 mm de diámetro, lo que indica que los fagos aislados fueron capaces de lisar la bacteria analizada. Sin embargo, las muestras de té de composta, té de lombricomposta, biósólidos, suelo agrícola y agua estancada no mostraron lisis en la prueba de Spot. La inactivación de los fagos, puede haber contribuido a su incapacidad para reducir la contaminación de *E. coli*, encontrando que no todos los aislamientos de bacteriófagos pueden lisar a *E. coli*. Cabe mencionar que para que ocurra la lisis se requiere que un número suficiente de partículas de fago se absorba en la célula, lo que resulta en daño de la pared celular y

posterior lisis celular. Ramírez *et al.* (2018) sugieren que el aislamiento de bacteriófagos está determinado por su sensibilidad a los factores físicos debido a su capacidad limitada de sobrevivir a diversos factores ambientales hostiles.

Nuestros resultados no concuerdan con lo reportado por Oh *et al.* (2017) al encontrar que todas las muestras de suelo analizadas resultaron un excelente fuente para el aislamiento de 11 bacteriófagos contra *Bacillus cereus*. Las cepas de *Escherichia coli* no fueron lisadas lo cual puede deberse al origen de la bacteria analizada en la que puede haber ocurrido una pérdida de receptores de bacteriófagos debido a la coevolución antagónica entre la bacteria y los bacteriófagos, como lo menciona López-Cuevas *et al.* (2011).

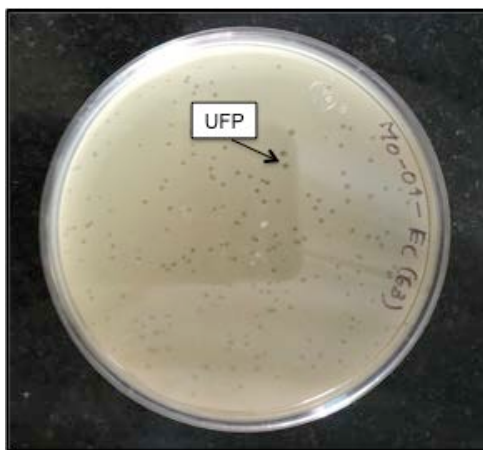


Figura 1. Observación de unidades formadoras de placa (UFC) generada por los bacteriófagos obtenidos a partir de productos frescos de carne.

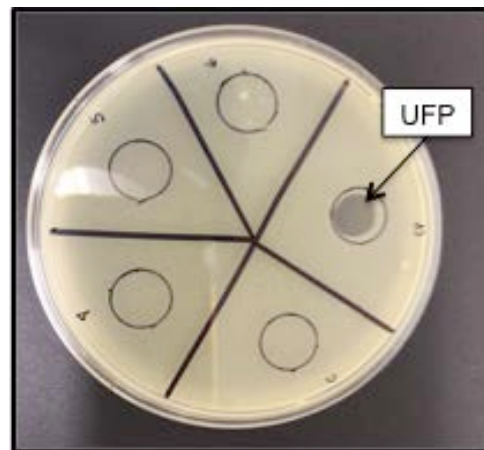


Figura 2. Observación de unidades formadoras de placa (UFP) producto de la acción lítica del bacteriófago control.

Uno de los factores que pudieron haber afectado la aparición de placas de lisis es que las bacterias para ser infectadas por los bacteriófagos, no deben encontrarse en el inicio de la fase de latencia o finalización de la fase logarítmica, ya que el porcentaje de infección disminuye y, por ende, disminuye la aparición de unidades formadoras de placa (UFP). Así mismo, el rápido desarrollo de la resistencia bacteriana a los fagos puede ser una desventaja.

Se utilizó como control positivo el bacteriófago AV-05, el cual mostró una diferencia muy marca al producir placas de lisis de 1 cm de diámetro, claras y circulares (Figura 2).

CONCLUSIONES

LOS BACTERIÓFAGOS AISLADOS DE PRODUCTOS FRESCOS DE CARNE CONTRA LA BACTERIA *E. COLI* FUERON EFECTIVOS AL ENCONTRAR PLACAS CLARAS DE LISIS EN EL MEDIO DE CULTIVO. A DIFERENCIA DE LAS MUESTRAS AMBIENTALES QUE NO MOSTRARON LISIS.

LITERATURA CITADA

- Berry, E. D. y Wells, J. E. 2008. A Direct Plating Method for Estimating Populations of *Escherichia coli* O157 in Bovine Manure and Manure-Based Materials. *Journal of Food Protection* 71 (11): 2232-2238.
- Castelo-Gutiérrez, A. A., García-Mendivil, H. A., Castro-Espinoza, L., Lares-Villa, F., Arellano-Gil, M. Figueroa-López, P. y Gutiérrez-Coronado, M. A. 2016. Residual mushroom compost as soil conditioner and bio-fertilizer in tomato production. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 22 (2): 83-93.
- Estrada-Acosta, M. Jiménez, M. Chaidez, C., León-Félix, J. Y Castro-del Campo, N. 2014. Irrigation water quality and the benefits of implementing good agricultural practices during tomato (*Lycopersicon esculentum*) production. *Environ Monit Assess* 186: 4323-4330.
- Fernández, E. 2012. Riesgos Microbianos en la producción de frutas y hortalizas en áreas urbanas y periurbanas. En: Fernández, E. & Peña, J. Primera Edición 2011-2012. Riesgos Microbianos en la producción de alimentos frescos en áreas urbanas y periurbanas de América Latina.
- Fernández, E. 2012. Riesgos Microbianos en la producción de frutas y hortalizas en áreas urbanas y periurbanas. En Libro: Riesgos Microbianos en la producción de alimentos frescos en áreas urbanas y periurbanas de América Latina.
- Heringa, S. D., Kim, J., Jiang X., Doyle, M. P. y Erickson, M. C. 2010. Use of a Mixture of Bacteriophages for Biological Control of *Salmonella enterica* strains in Compost. *Applied and Environmental Microbiology* 76 (15): 5327-5332.
- Ingram, D. T. y Millner, P. D. 2007. Factors Affecting Compost Tea as a Potential Source of *Escherichia coli* and *Salmonella* on fresh produce. *Journal of Food Protection* 70 (4): 828-834.
- Kim, J., Shepherd, M. y Jiang, X. 2009. Evaluating the effect of Environmental Factors on Pathogen Regrowth in Compost Extract. *Microbial Ecology* 58 (3): 498-508.
- López-Cuevas, O., León, F. J., Jiménez, E. M., y Chaidez, Q. C. 2009. Detección y resistencia a antibióticos de *Escherichia coli* y *Salmonella* en agua y suelo agrícola. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32 (2): 119-126.
- López-Cuevas, O., Castro-Del Campo, N., León-Félix, J., González-Robles, A. y Chaidez C. 2011. Characterization of bacteriophages with a lytic effect on various *Salmonella*

- serotypes and *Escherichia coli* O157:H7. Canadian Journal of Microbiology. 57:1042-1051.
- López-Cuevas, O., Castro-Del Campo, N., Ramírez, K. y Chaidez C. 2016. Biocontrol of *Salmonella typhimurium* growth in tomato surface by bacteriophage P22. African Journal of Microbiology Research. Vol. 10 (15): 528-534.
- Mendoza, L. 2011. Posible presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en producción de tomate (*Lycopersiuon esculentum* Mill) orgánico bajo invernadero. Tesis Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Unidad Laguna. Torreón, Coahuila, México.
- Nieto, G. A., Murillo, A. B. y Troyo, D. E. 2002. El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annum* L.) en zonas áridas. INCI. 27 (8): 417-421.
- Oh, H., Joo S. D., Been, J. S., Park, H., Jeong, S., Sook, C. H., Oh, M. y Choi, C. 2017. Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Bacteriophages from Foods and Soil. Food and Environmental Virology Vol. 9 (3): 260-269.
- Sapers, G. M. 1999. Inventions to prevent contamination of fresh produce with pathogenic microorganisms. Memorias sobre inocuidad Alimentaria. PIDTCA. p 1-6.
- Ullah, S., Andleeb, S., Raza, T., Jamal, M. y Mehmood, K. 2017. Effectiveness of a Lytic Phage SRG1 against Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* in Compost and Soil. BioMed Research International, vol. 2017, Article ID9351017, 8 pages.
- Vázquez, P. V., Morales, R. M. y Navarro, C. M. 2016. Tomato (*Solanum lycopersicum*) hybrid Hermosa indeterminate study of yield and fruit quality under greenhouse conditions responding at organic manure application. African Journal of Agricultural Research 11 (3): 166-170.
- Zamorano, U. J. 2005. Evolución y perspectivas de la agricultura orgánica en México. Claridades agropecuarias. p 3-4.

Anexos

Cronograma de Actividades

ACTIVIDAD	SEMESTRE							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Revisión de literatura	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Lectura de artículos	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Formulación de protocolo	✓							
Estandarización de la metodología de bacteriófagos		✓						
Estandarización de la metodología de bacterias		✓						
Estancia en el Centro de Investigación en		✓	✓					

ACTIVIDAD	SEMESTRE							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Alimentación y Desarrollo, A. C.								
Aislar bacteriófagos líticos a partir de muestras ambientales			✓	✓				
Aislar <i>Salmonella</i> spp y <i>Escherichia coli</i> O157:H7 presentes en el té de composta				✓				
Escritura del primer artículo				✓				
Caracterizar biológica y molecularmente bacteriófagos aislados				✓	✓			
Ensayo in-vitro para el biocontrol de <i>Salmonella</i> spp y <i>Escherichia coli</i> O157:H7							✓	
Escritura del segundo artículo							✓	
Exámenes pre-doctorales					✓			
Análisis de laboratorio		✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Escritura de tesis							✓	✓
Examen de grado								✓

RESISTENCIA E IMPACTO DE DOS ANTIHELMÍNTICOS EN CABRAS DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN EN ZONAS SEMI-ÁRIDAS DEL NORESTE DE MÉXICO

Raquel Olivas-Salazar^{1,2}, Alfredo Estrada-Angulo¹, Miguel Mellado Bosque², Armando Jacinto Aguilar-Caballero³, Beatriz Isabel Castro-Pérez¹, Fernando Ruiz-Zárate²

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa. Blvd. San Ángel s/n, Predio Las Coloradas, C.P. 80236, Culiacán, Sinaloa, México.

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro N° 1923, Buenavista, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila, México.

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán. Km. 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil, Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la resistencia antihelmíntica (RA) de nematodos gastrointestinales (NGI) a la Ivermectina (IVM) y al Closantel (CLO) y el impacto de estos antihelmínticos en el peso, condición corporal, FAMACHA® y hematocrito de dos razas de cabras caprinas en un sistema de producción semi-intensiva de zonas semi-áridas del noreste de México (25°21' 14.19"N-101°01'57.75"O). De un rebaño caprino con 168 cabras adultas no gestantes de las razas Boer y Murciano Granadina, se seleccionaron 42 cabras con cuentas de huevos de NGI iguales o mayores a 150 huevos por gramo de heces (HPG). Se desarrolló el protocolo de determinación de la RA de acuerdo a los lineamientos de la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP por sus siglas en inglés). Se encontraron larvas de fase infectiva (L3) de los géneros *Haemonchus* con un 57%, *Cooperia* con un 39% y *Ostertagia* con un 4%. La raza de las cabras no afectó ($p>0.05$) el conteo de huevos pre-tratamiento, pero sí afectó ($p<0.05$) el conteo de HPG a los 7 y 14 días post-tratamiento. Las cabras de raza Murciano-Granadina tuvieron más altas cuentas de HPG que las cabras de la raza Boer. El tratamiento antihelmíntico no afectó ($P>0.05$) el conteo de HPG pre-tratamiento, pero fue una fuente importante de variación ($p<0.05$) para la cuenta de HPG a los 7 y 14 días post-tratamiento. Las cabras tratadas con CLO presentaron más bajos conteos de HPG tanto a los 7 como a los 14 días post-tratamiento que las cabras tratadas con IVM y las del grupo control. No se observó diferencia en las cuentas de HPG de las cabras tratadas con IVM y las del grupo control ($P>0.05$). El porcentaje de reducción en la cuenta de HPG a los 7 días post-tratamiento fue: 34, 61 y 13%, y a los 14 días post-tratamiento fue: 4, 88, -8% para las cabras tratadas con IVM, CLO y grupo control, respectivamente. A los 112 días post-tratamiento, las cabras tratadas con CLO mantuvieron cuentas de HPG menores comparadas con las cabras tratadas con IVM y las del grupo control ($P<0.05$). Se encontró evidencia de desarrollo de resistencia a la ivermectina y sospecha de resistencia al closantel para cepas de NGI en cabras Boer y Granadina en un sistema de producción semi-intensiva en las zonas semiáridas del noreste de México.

Palabras claves: Resistencia antihelmíntica, NGI, Cabras, Zonas semi-áridas, México

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the anthelmintic resistance (AR) of gastrointestinal nematodes (GIN) to Ivermectin (IVM) and Closantel (CLO) and the impact of these anthelmintics on weight, body condition, FAMACHA® and hematocrit of two goat breeds in a semi-intensive system in semi-arid area of northeastern Mexico (25°21' 14.19"N-101°01'57.75"O). From a 168 non-pregnant Boer and Murciano Granadina adult goats, 42 goats were selected based on nematodes gastrointestinal (GIN) egg counts (EPG) equal to or greater than 150 EPG. The protocol for the determination of AR was developed according to the guidelines of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) and two anthelmintics were tested: Ivermectin and Closantel. Infective phase larvae (L3) were found with 57% *Haemonchus*, 39% *Cooperia* and 4% *Ostertagia*. The goat breed did not affect ($p > 0.05$) the pre-treatment EPG count, but it did affect ($p < 0.05$) the EPG count at 7 and 14 days post-treatment. The goats of the Murciano-Grenadine breed had higher EPG counts than the goats of the Boer breed. The anthelmintic treatment did not affect ($P > 0.05$) the pre-treatment EPG count, but it was an important source of variation ($p < 0.05$) for the EPG count at 7 and 14 days post-treatment. The goats treated with CLO presented lower EPG counts both at 7 and 14 days post-treatment than the goats treated with IVM and those from the control group. No difference was observed in the HPG accounts of the goats treated with IVM and those of the control group ($P > 0.05$). The reduction percentage in the EPG account at 7 days post-treatment was: 34, 61 and 13%, and at 14 days post-treatment it was: 4, 88, -8% for the goats treated with IVM, CLO and control group, respectively. After 112 days of treatment, goats treated with Closantel maintained on average, lower ($P < 0.05$) EPG scores compared to IVM and the control group. No difference was observed between the IVM and control groups ($P > 0.05$). Evidence for development of resistance to Ivermectin and Closantel was found for strains of GIN in Boer and Murciano Granadina goats in a semi-intensive production system in the semi-arid zones of northeastern Mexico.

Keywords: Anthelmintic Resistance, GIN, Goat, Semiarid zone, Mexico

1. INTRODUCCIÓN

Los caprinos son cada vez más importantes para la producción de alimentos de subsistencia, ya que más del 90% de la población mundial de esta especie se encuentra en países en desarrollo (Windsor *et al.*, 2018). Las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) son uno de los principales factores que afectan la salud y la producción de los rebaños caprinos (Paraud and Chartier, 2017; Bessell *et al.*, 2018) y esto conduce a un bajo rendimiento y pérdida económica en los animales en los sistemas de pastoreo en todo el mundo (Craig, 2018; Souza *et al.*, 2018; Vercruysse *et al.*, 2018; Verma *et al.*, 2018). Las infecciones por NGI reducen el aumento de peso, lo cual impacta en el tiempo que se requiere para alcanzar el peso para el sacrificio o la reproducción de los animales, y reduce la eficiencia de la conversión de los insumos nutricionales que se requieren para que el animal alcance la madurez (Sargison *et al.*, 2017). En los últimos años, el control de los NGI se ha basado en gran medida en el uso rutinario de drogas antihelmínticas (Onzima *et al.*, 2017; Babják *et al.*, 2018; Vercruysse *et al.*, 2018); en muchos rebaños estas drogas siguen siendo la primera opción, en lugar de buscar métodos alternativos para limitar el parasitismo de los NGI y de

encontrar soluciones para mejorar las estrategias de control, incluyendo principalmente el manejo del pastoreo (Babják *et al.*, 2018). La excelente eficacia de amplio espectro, la buena tolerabilidad y los bajos costos de las drogas antihelmínticas sintéticas disponibles han explicado su uso prolongado en animales durante los últimos 50-60 años (Lanusse *et al.*, 2018). Sin embargo, la excesiva dependencia de los antihelmínticos y su uso inadecuado e irracional ha generado fracasos terapéuticos y el desarrollo de resistencia antihelmíntica (RA) (Crook *et al.*, 2016; Goolsby *et al.*, 2017). Esto amenaza la sostenibilidad de la industria de los pequeños rumiantes (Martin *et al.*, 2016; Verma *et al.*, 2018), particularmente en los sistemas de producción extensiva (Vercruyssen *et al.*, 2018). La Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP por sus siglas en inglés), define la RA como “el fracaso para reducir el recuento de huevos por gramo de heces de NGI en al menos un 95%” (Geary *et al.*, 2012). La prueba de reducción del conteo de huevos fecales (Faecal egg count reduction test-FECRT) es la prueba más comúnmente usada para estudiar la RA en diferentes especies de animales. FECRT mide la capacidad del antihelmíntico para reducir la cuenta de huevos por gramo de heces (HPG) en más del 95%, medida 10-14 días después del tratamiento, en comparación con los HPG medidos en el momento del tratamiento (Paraud and Chartier, 2017; Verma *et al.*, 2018). Para esta prueba se requiere de dos muestras fecales obtenidas 7-14 días post-antihelmíntico en al menos 10 animales (Charlier *et al.*, 2018). La reducción de la productividad y el aumento de las tasas de morbilidad y de mortalidad son consecuencias de la resistencia antihelmíntica en los rebaños de cabras en entornos ricos en parásitos (Goolsby *et al.*, 2017). Zanzani *et al.* (2014) reportaron que el 33% de los rebaños caprinos de la zona norte de Italia tuvieron problemas de RA a diferentes drogas antihelmínticas. Mederos *et al.* (2016) encontraron RA en rebaños ovinos de Uruguay, el 100% de los rebaños mostraron RA a la familia de los benzimidazoles, 91% a los imidazotiazoles, 94% a la moxidectina, 91% al closantel y 6.1% al nuevo antihelmíntico monepantel. Es muy alentador la reciente evidencia en Nueva Zelanda para la reversión hacia la susceptibilidad antihelmíntica en *Teladorsagia circumcincta* en respuesta a programas de manejo de resistencia antihelmíntica (Leathwick *et al.*, 2015). En México, se ha reportado la RA en pequeños rumiantes de zonas tropicales y subtropicales localizadas en el sur y en el centro (Aguilar-Caballero *et al.*, 2009; Torres-Acosta *et al.*, 2005, 2012); sin embargo, la RA no ha sido documentada en rebaños caprinos de las zona-semi-áridas del noreste de México. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar la resistencia antihelmíntica de los NGI a la Ivermectina y al Closantel en cabras de raza Boer y Murciano Granadina; así como el impacto de estos antihelmínticos en las cuentas de HPG, condición corporal, FAMACHA[®], hematocrito y peso en un sistema de producción semi-intensivo de la zonas semi-áridas del noreste de México.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

El estudio se realizó en la unidad ovina y caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, México (25°21' 14.19"N-101°01'57.75"O), con una altitud de 1770 msnm. El clima es seco templado con temperatura media anual de 18°C; precipitación anual media de 304 mm con un 75% de precipitaciones en verano y otoño. El invierno es levemente frío con heladas ocasionales a partir de noviembre, siendo más

frecuente de enero a febrero. Las precipitaciones se pueden dividir en dos períodos: estación seca (noviembre a junio) y temporada lluviosa (junio a octubre). El invierno es generalmente seco y frío, lo que hace que la mayoría de los forrajes de pastizales se sequen, y por consecuencia, tienen menos valor nutricional (INEGI, 2003).

Animales y su manejo

El protocolo para la evaluación de la resistencia antihelmíntica se basó en los lineamientos de la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (Coles *et al.*, 1992). De un rebaño caprino compuesto por 168 animales, se utilizaron 42 cabras adultas no gestantes de raza Boer (41.16 kg PV) y raza Murciano Granadina (33.7 kg PV). El criterio de inclusión fue que las cabras presentaran cuentas al menos de 150 HPG de NGI. Las cabras fueron distribuidas al azar en 3 grupos: GI)Ivermectina (n=15, 546.6 HPG), GC)Closantel (n=12, 445.8 HPG) y GS)Solución salina (n=15, 447.0 HPG). Las cabras se alimentaron de praderas de *Kochia scoparia* y *Salsola ibérica* durante el verano. El resto del año mediante pastoreo en vegetación arbustiva, agaváceas y cactáceas; gramíneas como *Chlorisgayana*, *Cynodon dactylon*, *Hilaria berlanderii* y *Boutelouas*. El tamaño de la superficie de pastoreo fue de 12 ha. El pastoreo de las cabras fue de 4 horas diarias (de 10:00 a 14:00 horas) y suplementados en corral con alimento balanceado comercial a razón de 300 g/animal/día y heno de avena *ad libitum*.

A las cabras del grupo ivermectina (GI) se les administró ivermectina -Ivomec® (*Laboratorio merial*); al grupo closantel (GC) se les administró Closantel -Closantil® 5% Solución Inyectable (*Laboratorio chinoin*), y al grupo solución salina (GS) se les administró como placebo solución salina fisiológica. En el cuadro 1 se muestra la distribución y tratamiento aplicado a los animales en los tres grupos al inicio del estudio.

Cuadro 1. Grupo, antihelmíntico administrado, dosis, vía de administración, número de cabras utilizado por grupo y promedio de huevos por gramo de heces (HPG) de nematodos gastrointestinales.

GRUPO	Antihelmíntico	Dosis por kg de peso vivo	Vía de administración	n	HPG
G+I	Ivermectina	Ivomec®-200µg	Subcutánea	15	546.6
G+C	Closantel	Closantil® 5%-10 mg	Subcutánea	12	445.8
G+S	Solución salina	Sol. Salina Fisiológica-0.2 ml	Subcutánea	15	447.0

2.2. Mediciones

Al inicio, a la mitad y al final del estudio, las cabras se pesaron, se colectaron muestras de sangre, se estimó la condición corporal y la FAMACHA[®]; así como se describe a continuación.

2.2.1. Peso vivo (PV)

Para determinar los cambios de peso, las cabras se pesaron individualmente usando una báscula electrónica de plataforma con capacidad para 100 kg.

2.2.2. Hematocrito (Ht)

De cada cabra se tomaron 3 mL de sangre mediante punción yugular en tubos con anticoagulante (EDTA) para determinar el porcentaje de Ht mediante la técnica de microhematocrito (Benjamín, 1991).

2.2.3. Condición corporal (CC)

Se estimó la CC con la técnica propuesta por Honhold *et al.* (1989), mediante el examen visual y palpación de cada uno de los animales, donde el valor 1 correspondió a cabras emaciadas y valor 5 a cabras obesas.

2.2.4. FAMACHA[®]

Se estimó la FAMACHA[®] de acuerdo con Van Wyk and Bath (2002) mediante el examen visual de las membranas de la mucosa ocular de cada uno de los animales, comparando con una lámina de colores imágenes de cabras clasificadas en cinco categorías (del 1 al 5), donde el valor 1 es una mucosa ocular de color rojo normal y el valor 5 significa animales anémicos graves con una mucosa ocular de color pálido.

2.2.5. Recolección y análisis de las muestras fecales

El día 7 y 14, y subsecuentemente cada 14 días hasta el día 112, se recolectaron muestras de heces de los animales. Las muestras fueron tomadas de cada cabra directamente del recto usando bolsas de polietileno previamente identificadas. Estas muestras se utilizaron para determinar el número de HPG de NGI mediante la técnica de McMaster modificada de acuerdo a Rodríguez *et al.* (1994) en el laboratorio de Producción Animal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México.

2.2.6. Cultivos fecales e identificación de larvas

Para identificar los géneros de NGI, se realizaron coprocultivos usando la técnica de Corticelli Laí (Corticelli and Lai, 1963), y para identificar las larvas se usaron las claves de identificación descritas por Van Wyk y Mayhew (2013). Estas claves consideran principalmente la forma de la cabeza y la longitud de la cola de la larva.

2.3. Análisis estadístico

Se determinó la resistencia antihelmíntica de acuerdo a Torres-Acosta *et al.* (2005), donde la resistencia fue declarada cuando el porcentaje de reducción de cuenta de HPG fue menor al

95% y el nivel de confianza fue menor al 90%. Se consideró como sospechoso a resistencia cuando se cumplió un solo criterio. Las medias de cuentas de HPG de NGI entre los grupos durante los 112 días post-tratamiento fueron analizados a través de ANOVA y las medias a través de la comparación de Tukey. Previo al análisis, se transformaron los valores de HPG mediante Log10.

3. RESULTADOS

La raza de las cabras no afectó ($p>0.05$) el conteo de huevos pre-tratamiento, pero si afectó ($p<0.05$) el conteo de HPG a los 7 y 14 días post-tratamiento (Figura 1). Las cabras de raza Murciano-Granadina tuvieron más altas cuentas de HPG que las cabras de raza Boer. El tratamiento antihelmíntico no afectó ($P>0.05$) el conteo de HPG pre-tratamiento, pero fue una fuente importante de variación ($p<0.05$) para la cuenta de HPG a los 7 y 14 días post-tratamiento. Las cabras tratadas con closantel presentaron más bajas cuentas de HPG tanto a los 7 como a los 14 días post-tratamiento que las cabras tratadas con ivermectina y las del grupo control (Figura 3). No hubo diferencias en el conteo de HPG entre las cabras tratadas con ivermectina y el grupo control ($p>0.05$).

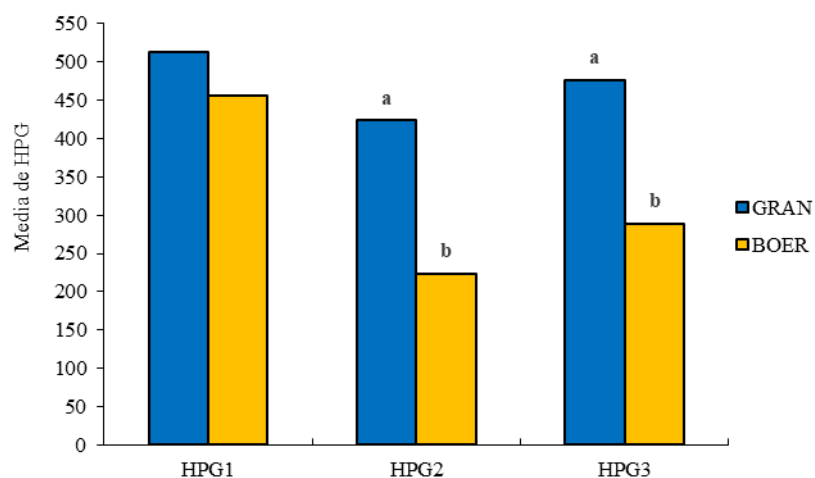


Figura 1. Efecto de la raza de cabras sobre el conteo de huevos por gramo de heces (HPG). HPG1- HPG pre-tratamiento; HPG2-HPG a los 7 días post-tratamiento; HPG3- HPG a los 14 días post-tratamiento.

a,b Medias con diferente literal en la columna son diferentes ($P <0.05$).

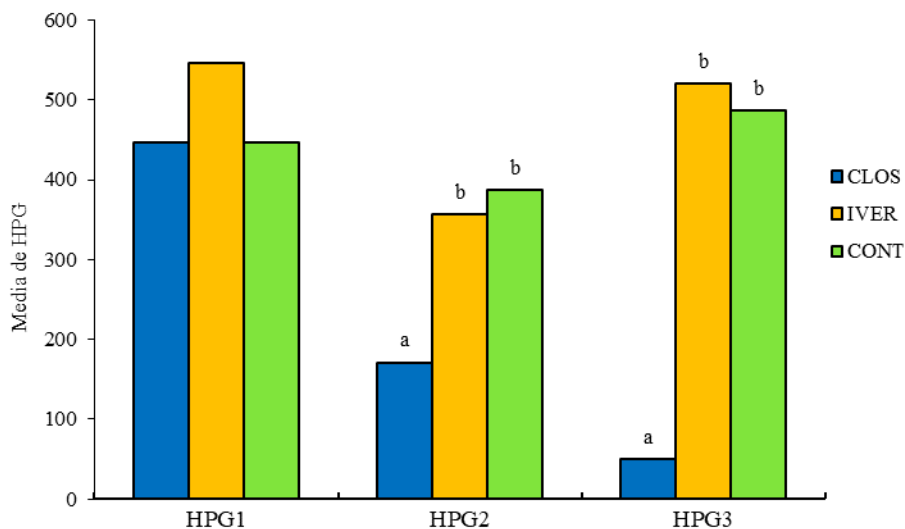


Figura 2. Efecto del tratamiento antihelmíntico sobre el conteo de huevos por gramo de heces (HPG) de las cabras.

HPG1- HPG pre-tratamiento; HPG2-HPG a los 7 días post-tratamiento; HPG3- HPG a los 14 días post-tratamiento.

CLOS, Closantel; IVER, Ivermectina; CONT, Solución salina.

a,b Medias con diferente literal en la columna son diferentes ($P < 0.05$).

La prueba de resistencia (FECRT) mostró que el rebaño está infectado con cepas de NGI resistentes a la ivermectina y sospechosas de resistencia al closantel (Cuadro 2). Para el grupo de animales tratados con ivermectina, el porcentaje de reducción en la cuenta de HPG y el límite de confianza fue 34.7 (0-65%) y 4.8 (0-48%) para el día 7 y 14 post-tratamiento, respectivamente. Para el caso de closantel, el porcentaje de reducción en la cuenta de HPG y el límite de confianza fue 61.6 (0-90%) y 88.7 (59-96%) para el día 7 y 14 post-tratamiento, respectivamente.

Al mes del tratamiento antihelmíntico el grupo de cabras con closantel mantuvo el conteo de HPG mientras que en el grupo de cabras con ivermectina y el grupo control éste se vio incrementado. A los tres meses post-tratamiento, el closantel mantuvo bajas las cuentas de HPG de NGI en las cabras comparado con el grupo tratado con ivermectina y el grupo testigo ($P < 0.05$). No se observaron diferencias entre el grupo testigo y el tratado con ivermectina ($P > 0.05$). Estos resultados indican que un solo tratamiento efectivo es capaz de mantener cuentas bajas de HPG en las cabras en zonas semi-áridas durante la época de lluvias, lo cual reduce el potencial de infección de las praderas.

Cuadro 2. Porcentaje de reducción de huevos por gramo de heces (HPG) y resultado de la prueba de resistencia antihelmíntica en cabras de un sistema de producción semi-intensivo de zonas semi-áridas del noreste de México.

	Pre-trat	7 días post	14 días post	1º. Mes post	2º. Mes post	3º. Mes post
Prom. Temperatura °C	25.0	23.4	23.6	21.6	17.8	17.1

Prom Humedad Relativa %	63.6	65.7	69.3	73.8	65.1	44.5
Ivermectina						
Num. de cabras	15	15	15	15	15	15
Media de HPG	546.6	356.6	520.0	953.3	690.0	673.3
% Reducción de HPG		34.76	4.88	-74.39	-26.22	-23.17
95% -IC-		0.0-65.21	0.0-48.08	0.0-12.19	0.0-36.88	0.0-30.50
Efectividad		R*	R*			
Closantel						
Num. de cabras	12	12	12	12	12	12
Media de HPG	445.8	170.8	50.0	50.0	137.5	312.5
% Reducción de HPG		61.68	88.79	88.79	69.16	29.91
95% -IC-		0.0-90.07	59.6-96.88	74.0-95.15	27.9-86.81	0.0-65.59
Efectividad		S**	S**			
Solución salina						
Num. de cabras	15	15	15	15	15	15
Media de HPG	447.0	386.6	486.6	593.3	440.0	520.0
% Reducción de HPG		13.43	-8.96	-32.84	1.49	-16.42
95% -IC-		0.0-55.27	0.0-37.91	0.0-21.32	0.0-48.51	0.0-37.46
Efectividad		R*	R*			

*R-Resistente; **S-Sospechoso de resistencia

El Cuadro 3 muestra los HPG en los diferentes grupos de raza y antihelmíntico. El estudio mostró que al inicio no hubo diferencias entre éstos; sin embargo, a mitad del estudio, las cabras tratadas con closantel tuvieron cuentas más bajas de HPG ($P < 0.05$). Con respecto a la prueba de hematocrito, hubo diferencias entre los grupos para esta variable al inicio del estudio, siendo las cabras Boer tratadas con ivermectina las de hematocrito más bajo; Sin embargo, a la mitad del estudio no hubo diferencias entre los grupos ($P > 0.05$).

Cuadro 3. Huevos por gramo de heces y cambios en el porcentaje de hematocrito de las cabras al inicio, a la mitad y al final del estudio.

Tra	t	N	HUEVOS POR GRAMO DE HECES			CAMBIOS EN EL % DE HEMATOCRITO		
			MEDIA±D.E..			MEDIA±D.E.		
			INICIO	MITAD	FINAL	INICIO	MITAD	FINAL
B+I	9		561.1±40 7.5	794.4±1011 .9	472.2±53 0.9	20.6± 2.9	3.9±5. 8	3.1±5.8
G+I	6		525.0±19 6.8	1191.6±118 0.4	975.0±56 3.6	21.8± 3.4	0.01± 6.0	- 0.04.8±5.

B+	6	375.0±15	a	58.3±66.4	b	250.0±17	b	23.8±	a	0.91±	a	1.7±5.4	a
C		4.1				0.2		4.0	b	8.6			
G+	6	516.6±49	a	41.6±49.1	b	375.0±27	b	25.8±	a	3.4±4.	a	-6.8±6.4	b
C		2.6				4.4		4.4		6			
B+	8	400.0±34	a	562.5±329.	a	525.0±60	a	25.3±	a	1.54±	a	2.6±1.6	a
S		3.3		2		0.0	b	4.3		6.8			
G+	7	500.0±35	a	628.5±401.	a	514.2±20	a	25.3±	a	3.0±1.	a	0.4±3.2	a
S		4.7		9		7.5	b	2.7		9			

B-Boer; G-Granadina; I-Ivermectina; C-Closantel; S-Solución salina.

a,b Medias con diferente literal en la columna son diferentes (P <0.05).

Cuadro 4. Cambios en los valores de condición corporal y de FAMACHA® de las cabras al inicio, a la mitad y al final del estudio.

Trat	N	CAMBIOS EN LA CONDICIÓN CORPORAL						CAMBIOS EN LA FAMACHA					
		MEDIA±D.E.						MEDIA±D.E.					
		INICIO		MITAD		FINAL		INICIO		MITAD		FINAL	
B+I	9	2.6±0.5	b	0.22±0.4	a	0.33±0.7	a	2.5±0.5	a	0.22±0.6	a	0.33±0.7	ab
G+I	6	3.3±0.5	a	0.83±0.9	c	0.0±0.6	a	2.7±0.4	a	0.50±0.5	a	0.66±0.8	abc
B+C	6	3.0±0.0	ab	0.33±0.5	a	0.50±0.8	a	2.6±0.5	a	0.33±0.5	a	0.16±0.4	bc
G+C	6	3.0±0.0	ab	0.50±0.5	bc	0.0±0.8	a	2.6±0.5	a	0.33±0.5	a	0.83±0.7	ab
B+S	8	3.0±0.0	ab	0.12±0.3	ab	0.12±0.3	a	2.5±0.5	a	0.0±0.5	a	0.37±0.5	c
G+S	7	3.0±0.0	ab	0.14±0.3	ab	0.71±0.4	a	2.5±0.5	a	0.42±0.5	a	1.0±0.5	a

B-Boer; G-Granadina; I-Ivermectina; C-Closantel; S-Solución salina.

a,b Medias con diferente literal en la columna son diferentes (P <0.05).

Respecto a los cambios de peso en los diferentes grupos, como se muestra en la Figura 3, las cabras de raza Boer mantuvieron constante su peso o tuvieron incrementos durante todo el periodo de estudio, mientras que las cabras de raza Murciano Granadina registraron disminución de peso, principalmente a la mitad del estudio. Al final del estudio, las cabras granadinas tratadas con ivermectina o con solución salina recuperaron el peso perdido, e incluso lo incrementaron, mientras que las tratadas con closantel no lo recuperaron.

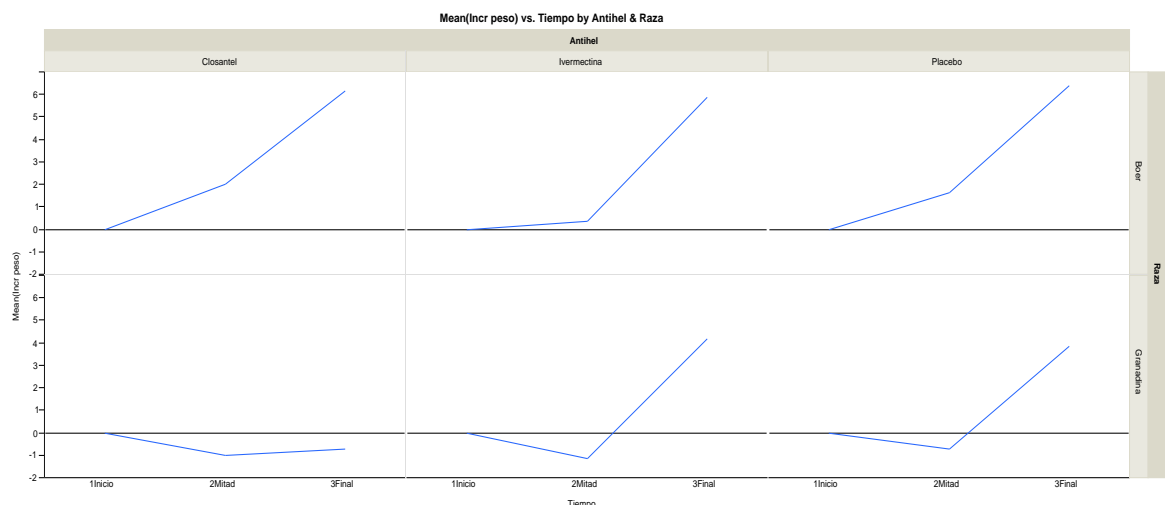


Figura 3. Cambios de peso en cabras Boer y Murciano Granadina tratadas con Closantel, ivermectina y solución salina (placebo) al inicio, mitad y final del estudio.

4. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que evidencia la resistencia antihelmíntica a la ivermectina y sospecha de resistencia al closantel en cabras de las zonas semiáridas del noreste de México. Los nematodos gastrointestinales resistentes a las propiedades antihelmínticas son una amenaza para la sostenibilidad de la industria de los pequeños rumiantes (Goolsby *et al.*, 2017). El uso irracional de productos antihelmínticos ha generado resistencia a dichas drogas en cepas de NGI en los rebaños de pequeños rumiantes en el mundo (Jabbar *et al.*, 2006 Hay artículos más nuevos). Esta resistencia se ha reportado en el sur y centro de México (Aguilar-Caballero *et al.*, 2009; Torres-Acosta *et al.*, 2012) pero se desconoce su situación en los rebaños caprinos del norte del país. Al respecto Erez and Kozan (2018) señalan que las causas más comunes de la resistencia antihelmíntica son la sobredosis y la subdosificación povocadas por los cálculos inadecuados por la falta de pesaje de los animales; la falta de rotación de familias de antihelmínticos; la frecuencia de desparasitaciones y el uso de antihelmínticos de larga acción o de liberación lenta que exponen al huésped a bajas dosis al final de la fase de eliminación. La aparición de RA a la ivermectina del presente estudio puede deberse principalmente a dos factores. Primero, porque los animales de este rebaño eran desparasitados con frecuencia (más de tres veces al año) en la época de lluvias, y segundo, porque las cabras se mezclan en el pastoreo con el ganado ovino, tal y como lo indican Babják *et al.* (2018), esta mezcla de caprinos y ovinos podría acelerar el desarrollo de RA. La situación del closantel debe ser considerada antes que las cepas de NGI se vuelvan resistentes a esta droga.

Los géneros de NGI recuperados en los coprocultivos fueron larvas de fase infectiva (L3): *Haemonchus* con un 57%, *Cooperia* con un 39% y *Ostertagia* con un 4%. Resultados similares han sido reportados en México (Torres-Acosta *et al.*, 2005). En rebaños caprinos de zonas semiáridas del noreste de México Olivas-Salazar *et al.* (2018) reportaron larvas de *Trichostrongylus spp* y *Haemonchus spp*.

De acuerdo con Peña-Espinoza *et al.* (2014), hay una significativa reducción natural de los HPG en los corderos no tratados durante la FECRT, y por lo tanto es de suma importancia incluir un grupo control para asegurar una determinación precisa de la eficiencia del medicamento. El hallazgo de resistencia a benzimidazoles en *T. colubriformis* y *H. contortus* altamente patógeno en un hato orgánico recientemente establecido demuestra la necesidad de una estrecha vigilancia del stock comprado para evitar la introducción de nematodos resistentes.

5. CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio demuestran que en las zonas semi-áridas del noreste de México existen cepas de NGI resistentes a la ivermectina y sospechosos de resistencia al closantel en cabras de la raza Boer y Murciano Granadina mantenidas bajo condiciones semi-intensivas. Esto requerirá que se realicen pruebas en cada granja de cabras para determinar qué antihelmínticos siguen siendo efectivos y que se solicite el asesoramiento veterinario para que se pueda implementar un plan racional y sostenible con métodos alternativos de control interno de NGI en las cabras de estas zonas del país.

6. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a PROMEP-SEP-MEXICO por el apoyo financiero otorgado para la realización de esta investigación (Proyecto: Alimentación y Salud de Pequeños Rumiantes en Zonas Áridas. IDCA23812, Clave: UAAAN-CA-29, Cuerpo Académico en Producción Animal Biotecnológica).

7. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Caballero A.J., Torres-Acosta J.F.J., Cámara-Sarmiento R. 2009. Importancia de parasitismo gastrointestinal en ovinos y situación actual de la resistencia antihelmíntica en México. In: Avances en el control de la parasitosis gastrointestinal de ovinos en el trópico. Compilado por: González Garduño R. y Berumen Alaforte A.C. Editado por: Universidad Autónoma de Chapingo, U.R.U.S.E. Tabasco, México. pp. 1-11. ISBN: 978-607-12-0089-1.
- Babják M., Königová A., Urda Dolinská M., Vadlejch J., Várady M. 2018. Anthelmintic resistance in goats herds –*In vivo* versus *in vitro* detection methods. *Veterinary Parasitology*, 254:10-14.
- Benjamín M.M. 1991. Manual de patología clínica veterinaria. Noriega Editores. Limusa. México. 9-128.
- Bessell P.R., Sargison N.D., Mirende K., Dash R., Prasad S., Al-Riyami L., Gammon N., Stuke K., Woolley R., Barbaruah M., Wambura P. 2018. The impact of anthelmintic drugs on weight gain of smallholder goats in subtropical regions. *Preventive Veterinary Medicine*, 159:72-81.
- Charlier J., Thamsborg S.M., Bartley D.J., Skuce P. J., Kenyon F., Geurden T., Hoste H., Williams A. R., Sotiraki S., Höglund J., Chartier C., Geldhof P., Van Dijk J., Rinaldi L., Morgan E. R., Samson-Himmelstjerna G., Vercruyse J., Claerebout E. 2018. Mind the gaps in research on the control of gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transbound Emerg Dis*, 65: 217-234.

- Coles G.C., Bauer C., Borgsteede F.H., Geerts S., Klei T.R., Taylor M.A., Walle, J.P., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44:35-44.
- Corticelli B., Lai M. 1963. Ricerche sulla tecnica di coltura delle larve infestive degli strongili gastrointestinali del bovino, *Acta Medica Veterinaria*, año 9, Fasc V/VI.
- Craig T.M. 2018. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. *Vet Clin Food Anim*, 34:185-199.
- Crook E.K., O'Brien D.J., Howell S.B., Storey B.E., Whitley N.C., Burke J.M. Kaplan R.M. 2016. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the mid-Atlantic region and comparison of in vivo and in vitro detection methods. *Small Ruminant Research*, 143:89-96.
- Erez M.S., Kozan E. 2018. Anthelmintic resistance in farms animals. *Kocatepe Veterinary Journal*, 11:1-9.
- Geary T.G., Hosking B.C., Skuce P.J., Samson-Himmelstjerna G.V., Maeder S., Holdsworth P., Pomroy W., Vercruyse J. 2012. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.). Guideline: Anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses. *Veterinary Parasitology*, 190:306-316.
- Goolsby M.K., Leite-Browning M.L., Browning Jr R. 2017. Evaluation of parasite resistance to commonly used commercial anthelmintics in meat goats on humid subtropical pasture. *Small Ruminant Research*, 146:37-40.
- Honhold N., Peti, H., Halliwell R.W. 1989. Condition scoring scheme for small east African goats in Zimbabwe. *Tropical Animal and Health Production*. 21(2):121-127.
- INEGI. 2003. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Registro Nacional de Información Geográfica (RNIG). Aguascalientes, Agsc. México.
- Lanusse C., Canton C., Virkel G., Alvarez L., Costa-Junior L., Lifschitz A. 2018. Strategies to Optimize the Efficacy of Anthelmintic Drugs in Ruminants. *Trends in Parasitology*, 34:664-682.
- Leathwick D.M., Ganesh S., Waghorn T.S. 2015. Evidence for reversion towards anthelmintic susceptibility in *Teladorsagia circumcincta* in response to resistance management programmes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5:9-15.
- Martin R.J., Wolstenholme A.J., Caffrey C.R. 2016. **Anthelmintics: from discovery to resistance II** (San Diego, 2016). *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 6:297-298.
- Mederos A., Carracelas B., Lara S., Pimentel S., Banchemo G. 2016. **Situación actual de la resistencia a las drogas antihelmínticas en ovinos en Uruguay. Revista INIA**, 44:10-12.
- Olivas-Salazar R., Estrada-Angulo A., Mellado M., Aguilar-Caballero A.J., Castro-Pérez B.I., Gutiérrez-Blanco E., Ruiz-Zárate F. 2018. Prevalence of gastrointestinal nematode infections in goat flocks on semi-arid rangelands of northeastern Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 50: 807-813.

- Onzima R.B., Mukiiibi R., Ampaire A., Benda K.K., Kanis E. 2017. Between-breed variations in resistance/resilience to gastrointestinal nematodes among indigenous goat breeds in Uganda. *Tropical Animal Health and Production*, 49:1763-1769.
- Paraud C., Chartier C. 2017. Chapter 16. Facing Anthelmintic Resistance in Goats. In: Simões J., Gutiérrez C. (eds). *Sustainable Goat Production in Adverse Environments*, 1:267-292.
- Peña-Espinoza M, Thamsborg S.M., Demeler J., Enemark H.L. 2014. Field efficacy of four anthelmintics and confirmation of drug-resistant nematodes by controlled efficacy test and pyrosequencing on a sheep and goat farm in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 206:208-215.
- Rodríguez V.R., Domínguez A. J., Cob G.L. 1994. *Técnicas Diagnósticas de Parasitología Veterinaria*. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México. ISBN: 968-6843-60-4.
- Sargison N.D., Ivil S.A.J., Abraham J., Abubaker S.P.S., Hopker A.M., Mazeri S., Otter I.A., Otter N. 2017. Investigation of productivity in a south Indian Malabari goat herd shows opportunities for planned animal health management to improve food security. *Veterinary Record*, 180:278. DOI: [10.1136/vr.103801](https://doi.org/10.1136/vr.103801)
- Souza B.M.P.S., Lambert S.M., Nishi S.M., Saldaña G.F., Oliveira G.G.S., Vieira L.S., Madruga C.R., Almedia M.A.O. 2018. Collectins and galectins in the abomasum of goats susceptible and resistant to gastrointestinal nematode infection. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 12:99-105.
- Torres-Acosta, J.F.J., Aguilar-Caballero, A.J., Le Bigot, C., Hoste, H., Canul-Ku, H.L., Santos-Ricalde, R., Gutiérrez-Segura, I. 2005. Comparing different formulae to test for gastrointestinal nematode resistance to benzimidazoles in small holder goat farms in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 134: 241-248.
- Torres-Acosta J.F.J., Sandoval-Castro C.A., Hoste H., Aguilar-Caballero A.J., Cámara-Sarmiento R., Alonso-Díaz M.A. 2012. Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small Ruminant Research*, 103:28-40.
- Van Wyk J.A., Bath G.F. 2002. The FAMACHA® system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research*, 33:509-529.
- Van Wyk J.A., Mayhew E. 2013. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 80:1-14
- Vercruyse J., Charlier J., Van Dijk J., Morgan E.R., Geary T., Von Samson-Himmelstjerna, G., Claerebout, E. 2018. Control of helminth ruminant infections by 2030. *Parasitology*, 1-10.
- Verma R., Lata K., Das G. 2018. An overview of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of livestock and its management: India perspectives. *International Journal of Chemical Studies*, 6:1755-1762.
- Windsor P.A., Nampanya S., Puttana V., Keonam K., Johnson K., Bush R.D. Khounsy S. 2018. The endoparasitism challenge in developing countries as goat raising develops

from smallholder to commercial production systems: A study from Laos. *Veterinary Parasitology*, 251:95-100.

Zanzani S. A., Gazzonis A. L., Di Cerbo A., Varady M., Manfredi M.T. 2014. Gastrointestinal nematodes of dairy goats, anthelmintic resistance and practices of parasite control in Northern Italy. *BMC Veterinary Research*, 10:114-114.

TRANSCRIPTÓMICA DE TEJIDOS DEL CAMARÓN BLANCO *Peneaeus vannamei* Y SU USO COMO MARCADORES REPRODUCTIVOS.

L.B.P. Jorge Luis Lizárraga Rodríguez.

Dra. Laura Rebeca Jiménez Gutiérrez¹, Dr. Raúl Pérez González¹, Dr. Guillermo Rodríguez Domínguez¹, Dr. Francisco Martínez Pérez², Dra. Marisela Aguilar Juárez¹

¹. Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del mar.

². Universidad Industrial de Santander (Colombia).

Jorgeluis_facimar@uas.edu.mx

02/03/2019

INTRODUCCIÓN

En México, la pesquería de camarón se posiciona en primer lugar de importancia comercial y segundo en volúmenes de captura de acuerdo a los datos de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, SAGARPA (2017). Debido a la importancia tanto económica como social de este recurso, especialistas del Instituto Nacional de Pesca (INAPESCA) y la SAGARPA realizan estudios biológico-pesqueros para tomar decisiones en cuanto a medidas manejo y con ello asegurar la sostenibilidad del recurso. Dentro de estos estudios, el aspecto más importante a considerar es la reproducción. Basados principalmente en el trabajo de campo; es decir, estadios reproductivos como son: tamaño, textura y coloración de las gónadas (Meeratana y Sobon 2007), lo cual no permite un estudio a profundidad de la fisiología reproductiva. Es necesario contemplar los mecanismos que regulan los procesos reproductivos, como el control hormonal y la expresión génica. En este sentido, se sabe que hay procesos importantes relacionados con la reproducción de los crustáceos, uno de ellos es la vitelogénesis, proceso mediante el cual, ocurre la formación del vitelo a través de la acumulación de vitelinas (Vt; cuyo precursor es la vitelogenina; Vtg) en los ovocitos y produce los cambios físicos de las gónadas Chen *et al.*, (2014). Dentro del estudio de la vitelogénesis, se han identificado los sitios de síntesis de Vtg, siendo hepatopáncreas y ovarios los tejidos donde en la mayoría de los crustáceos se ha demostrado su síntesis Bai *et al.*, (2015), Bae *et al.*, (2017). A su vez, la vitelogénesis es regulada por actividad hormonal, especialmente por la hormona inhibidora de la vitelogénesis (HIV), y la hormona inhibidora de la muda (HIM) pertenecientes a la familia hormona Hiperglucémica de los crustáceos y sintetizadas por complejo órgano X-glándula sinusal situada en los pedúnculos oculares Tsuitsui *et al.*, (2013).

Los patrones de expresión de los genes codificantes para Vtg, HIV, HIM y otros genes que posiblemente regulen la reproducción, relacionados con los estadios de madurez gonádica, podría brindar información para la toma de decisiones en cuanto al manejo del recurso.

Debido a esto, en este estudio se realizará un análisis de los transcriptomas de los tejidos hepatopáncreas, ovarios y pedúnculos oculares, en cada uno de los estadios reproductivos y

a distintas horas del día para contemplar un ciclo circadiano completo (24 h) con la finalidad de obtener todos los genes involucrados en la reproducción del camarón blanco. De este modo se elegirán los genes que presenten patrones de expresión correspondientes a los estadios de madurez para evaluar su posible uso como indicadores reproductivos.

ANTECEDENTES

En los crustáceos decápodos se han analizado los transcriptomas de diferentes especies, con un enfoque fisiológico del control de la reproducción Kang *et al.*, (2014), Tarrant *et al.*, (2014), Ventura-López (2018). Se ha observado que no solo los factores externos tienen un efecto en la regulación de la reproducción, sino que además los ritmos circadianos e infradianos pueden llegar a tener un efecto sobre los diferentes genes involucrados en este proceso Martínez-Pérez (2005), Thongda *et al.*, (2015). Dentro de los pocos estudios transcriptómicos en los crustáceos se ha descubierto la intervención de distintos genes como: *AGPAT4*, *EcR*, *ELOV*, *ERR*, *FABP*, *Fem1*, *FTZ-F1*, *HIM*, *HIOM*, *HIV*, *HR3*, *HR38a*, *HR38b*, *HR78*, *OGlcNAc*, *Torso-like*, *Vtg*, *VtgR*, entre otros (Kang *et al.*, (2014), Tarrant *et al.*, (2014), Rotllant *et al.*, (2015), Ventura-López (2018). No obstante, los análisis transcriptómicos se limitan a brindar información de un solo tejido y solo bajo una condición muy específica, sin embargo, se deben contemplar distintas horas del día, distintos tejidos, distintos estadios reproductivos, esto para obtener un panorama más amplio para la comprensión de los procesos reproductivos y encontrar todos los posibles genes que intervienen en esta regulación, esto se puede realizar con la ayuda de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (SNG). Actualmente, para determinar estadios de madurez gonádica en los camarones, se utilizan métodos macroscópicos e histológicos, sin embargo, estos métodos son incapaces de demostrar el porqué de los cambios que puedan presentarse en la madurez y la reproducción de los organismos. Por otra parte, los estudios transcriptómicos en los tejidos: pedúnculo ocular, hepatopáncreas y gónadas ayudarán a conocer los genes más importantes involucrados en el control reproductivo de *P. vannamei*, sus niveles de expresión y regulación, así como su posible uso como marcadores moleculares del estadio reproductivo.

JUSTIFICACIÓN

En especies donde todavía se desconoce su genoma, el uso de las tecnologías de SNG abre un nuevo abanico de posibilidades de estudio para las especies modelo como lo es *P. vannamei*, particularmente en la evaluación de los tejidos involucrados en el control de la reproducción. Para conocer la información completa de los genes involucrados es necesario contemplar todas las variables, no solo los tejidos involucrados en los diferentes estadios de madurez gonádica, además de incluir diferentes horarios de muestreo de modo que permitan cubrir la regulación de los ritmos circadianos. Con el entendimiento detallado de dicha información es posible generar patrones de comportamiento, no solo de la reproducción, sino que será posible integrar los factores de crecimiento y nutrición. Con todo lo anterior será posible mejorar las medidas de manejo del recurso para el desarrollo sustentable tanto de la pesquería, como en el cultivo.

HIPÓTESIS

Los patrones de expresión y sitios de síntesis de los genes de la Vtg, la HIV, y la HIM, entre otros, responderán a los diferentes estadios de madurez gonádica en *P. vannamei*. Además de que los análisis transcriptómicos de los tejidos hepatopáncreas, ovarios y pedúnculos oculares revelarán nuevos genes como marcadores moleculares del estado reproductivo.

OBJETIVOS

General:

Evaluar en los tejidos hepatopáncreas, ovarios y pedúnculos oculares la concentración del ARNm de los principales genes involucrados en la reproducción de *P. vannamei*, con respecto a los diferentes estadios de madurez gonádica del camarón, así como identificar en los transcriptomas de cada uno de los tejidos diana, los posibles nuevos genes involucrados y su participación en el proceso reproductivo.

Específicos:

- Analizar los transcriptomas de los tejidos hepatopáncreas, ovarios y pedúnculos oculares e identificar todos los genes involucrados en el proceso de regulación de la reproducción de *P. vannamei*.
- Caracterizar las secuencias nucleotídicas y deducidas de aminoácidos de los productos proteicos involucrados en la reproducción.
- Establecer correlación entre niveles de expresión de los genes seleccionados y los estadios de madurez gonádica de hembras *P. vannamei* por RT-PCR semi-cuantitativa de un paso.
- Establecer la correlación entre los resultados de los métodos morfo-colorimétricos, histológicos y moleculares para cada estadio de madurez gonádica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Bioensayo.

Para la realización del presente proyecto se utilizarán hembras provenientes de granjas de larvas de camarón, contando con organismos reproductores en etapa adulta, un total de 40 organismos serán utilizados para el análisis. Se realizará un bioensayo de 24 horas para contar con todo el control neuroendócrino. Las muestras se tomarán cada tres horas, contemplando cinco organismos por cada muestreo. Se tomarán las medidas de talla y peso total de los organismos, así como el estadio de madurez gonádica de acuerdo a las escalas morfocolorimétricas previamente reportadas (Pérez-Páramo 2014). Posteriormente los diferentes tejidos (gónada, hepatopáncreas y pedúnculos oculares) serán separados. Las muestras serán subdivididas para posteriores análisis (histológicos, transcriptómicos, y de expresión génica).

Histología.

Las muestras serán fijadas en solución Davidson por una semana, posteriormente se pasarán a etanol al 70% con agua de mar. Los ovarios se colocarán individualmente en casetes para ser deshidratados, aclarados e impregnados en parafina. Una vez que las muestras se encuentren deshidratadas se incluirán en bloques de parafina y posteriormente se realizarán cortes a 5 μm de espesor por medio de un micrótopo. Los cortes se pasarán por un baño María y se colocarán en portaobjetos, posteriormente se introducirán a un horno

para desparafinar. Las muestras serán pasadas por un tren de tinción con el procedimiento de Hematoxilina-Eosina (Humanson, 1972), una vez teñidas se montarán en resina sintética. Posteriormente, serán revisadas por medio de microscopio óptico compuesto y los estadios serán determinados de acuerdo al grado de maduración de los oocitos.

Construcción de las librerías.

Las librerías serán construidas a partir de un pool de los diferentes tejidos de los organismos muestreados. Se tomará una submuestra de 10 mg de cada organismo y se procederá a la extracción del ARN total por medio de TRIzol, de acuerdo a las especificaciones del fabricante. La concentración de ARN total será cuantificada por medio de espectrofotómetro NanoDrop. Adicionalmente se verificará la integridad de los ARN ribosomales en condiciones nativas en geles de agarosa al 1.5% en buffer TAE 1X con SYBR Safe al 0.1% (Invitrogen, USA) y la electroforesis se realizará en una cámara Mini-Sub Cell GT Systems (Bio-Rad, USA). Las muestras fueron enviadas para secuenciación a la unidad de genómica de Genoma Mayor, Santiago Chile.

Análisis de secuencias.

Las secuencias obtenidas serán analizadas con el algoritmo clustalW y posteriormente se realizará un análisis de secuencias con el GenBank usando el algoritmo BLAST. Se identificarán los codones de inicio y terminación de cada secuencia, la señal de poliadenilación y se calculará el porcentaje de identidad entre las secuencias de las especies genéticamente emparentadas con el programa BioEdit. Para obtener la secuencia deducida de aminoácidos de cada subunidad se usará la herramienta EXPASY translate tool (<http://web.expasy.org/translate/>) y se calcularán el peso molecular y el punto isoeléctrico (pI) de cada secuencia usando el algoritmo Prot Param Tool. La evaluación semi-cuantitativa de cada gen se llevará a cabo por medio del ADNc como templado y con la enzima ThermoScript™ Reverse Transcriptase con la mezcla de los cebadores para cada gen. Para determinar la relación filogenética de la secuencia nucleotídica de cada amplicón, se harán comparaciones con los miembros de la misma familia de genes.

Diseño de iniciadores específicos.

Se realizarán todos los análisis in silico para el diseño de cebadores tipo escorpión para cada ADNc reportado en el GenBank y contrastado contra las secuencias obtenidas de las librerías, con el fin de eliminar la formación de falsos positivos en la reacción de RT-PCR semi-cuantitativa y cuantitativa de un paso. Los cebadores sentido y antisentido serán diseñados en función del sitio de inicio y final de la traducción con el objetivo de amplificar únicamente a los ARNm activos en traducción y para el ARNr 18S a partir del primer al último nucleótido de la misma molécula activa en transcripción o que ya formen parte del ribosoma.

Como control de integridad y de los patrones de expresión se amplificará el ARNm de algunos genes constitutivos (Martínez-Pérez *et al.*, 2005) como β actina y G3PDH. Los cebadores para la RT-PCR de punto final se diseñarán para obtener diferentes amplicones dentro de las secuencias de entre 550-800 pares de bases, a fin de cubrir cada secuencia en

su totalidad. Las temperaturas de alineamiento de cada cebador se obtendrán con los modelos matemáticos ya establecidos.

Evaluación de la expresión génica.

Para la evaluación de la expresión de los genes de interés (ARNm de los precursores de la Vtg, HIV y de las HIM, entre otros), se harán mediciones por cada organismo, de modo que se contemplen los diferentes estadios de madurez gonádica y las diferentes horas muestreadas. De las muestras de hepatopáncreas, ovarios, y pedúnculos oculares se extraerá el ARN total a partir de 100 mg de cada tejido por medio del reactivo TRIzol de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Las muestras que se encuentren degradadas serán descartadas y se trabajará solamente con los ARN íntegros. El ARN total será tratado para eliminar la presencia de ADN genómico. Los productos de PCR se analizarán en geles de agarosa al 1.5. El gel de la electroforesis será digitalizado y se evaluará de forma semi-cuantitativa los niveles de expresión de cada gen de acuerdo a su densidad óptica con respecto al control por medio del software ImageTM Lab 2.0. (Bio-Rad, USA).

Análisis de resultados (pruebas estadísticas).

Todos los datos serán analizados para determinar la normalidad y homocedasticidad de la muestra. Para buscar significancia entre los datos se usará el paquete estadístico STATISTICA Advanced, utilizando un ANOVA de una vía a $p < 0.05$, y las diferencias de medias serán determinadas por medio de pruebas de comparación múltiple: Fisher y Tukey-Kramer, con un nivel de confianza del 95%. Para establecer la correlación entre la transcripción, las secuencias deducidas de aminoácidos y las imágenes de los cortes histológicos, se utilizarán los algoritmos computacionales de estadística y manejo de imágenes presentes en la Súper computadora GUANE.

LITERATURA CITADA

Bae S. H., Okutsu. T., Tsutsui. N., Kang J. B., Chen. H, Y., Wilder. N., M. 2017. Involvement of second messengers in the signaling pathway of vitellogenesis-inhibiting hormone and their effects on vitellogenin mRNA expression in the whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *General and Comparative Endocrinology* 701-4303.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.01.006>

Bai H. K., Qiao. H., Li. F., Fu. H., Gong S. Y., Jiang. S., Xiong. Y. 2015. Molecular characterization and developmental expression of vitellogenin in the oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* and the effects of RNA interference and eyestalk ablation on ovarian maturation. *Gene* 562, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.12.008>

Chen. T., Zhang P. LV., Wong. NK., Zhong. M., Ren. CH., Qun Hu. CQ. 2014. Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Vitellogenesis-Inhibiting Hormone (VIH) Is Predominantly Expressed in the Brain and Negatively Regulates Hepatopancreatic Vitellogenin (VTG) Gene Expression1. *BIOLOGY OF REPRODUCTION* 90(3):47, 1–10. DOI 10.1095/biolreprod.113.115030

Kang. B.J., Okutsu. T., Tsutsui. N., Shinji. N., Bae. S, H., Wilder. N, M. 2013. Dynamics of Vitellogenin and Vitellogenesis-Inhibiting Hormone Levels in Adult and Subadult Whiteleg Shrimp, *Litopenaeus vannamei*: Relation to Molting and Eyestalk Ablation. BIOLOGY OF REPRODUCTION 90(1):12, 1–10. DOI 10.1095/biolreprod.113.112243

Martínez P. F., Zinker. S., Aguilar. G., Valdés. J., Aréchiga H. 2005. Circadian oscillations of RPCH gene expression in the eyestalk of the crayfish *C. quadricarinatus*. Peptides. 26, 2434-44. doi:10.1016/j.peptides.2005.05.018

Tarrant. D., Von Der Haar. V, T. 2014. Synonymous codons, ribosome speed, and eukaryotic gene expression regulation. Cellular and molecular life sciences, 71(21), 4195-4206. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1684-2>

Thongda. W., Chung. J, S., Tsutsui. N., Zmora. N., Katenta. A. 2015. Seasonal variations in reproductive activity of the blue crab, *Callinectes sapidus*: Vitellogenin expression and levels of vitellogenin in the hemolymph during ovarian development. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. 179, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.08.019>

Tsutsui. N., Kawazoe. I., Ohira. T., Jasmani. S., Yang J. W., Wilder. MN., Aida. K. 2000. Molecular Characterization of a cDNA Encoding Vitellogenin and Its Expression in the Hepatopancreas and Ovary during Vitellogenesis in the Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus*. ZOOLOGICAL SCIENCE 17: 651–660. <https://doi.org/10.2108/zsj.17.651>

Ventura L. C. 2018. Identificación y evaluación de la expresión de genes relacionados con la reproducción en *Litopenaeus vannamei*, obtenidos a partir de librerías de tallo ocular y ovario.(Tesis de Maestría) Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/504>

DESARROLLO GONÁDICO DE LA SARDINA CRINUDA (*Opisthonema spp*) DEL SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO

Diana Laura Cervantes-Rendón^{1,2}, Rebeca Sánchez-Cárdenas², Mercedes Laura Jacob-Cervantes³, Eber Enrique Orozco-Guillen⁴, Jorge Saúl Ramírez-Pérez², Luis Antonio Salcido-Guevara².

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, ²Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa; diana_facimar@uas.edu.mx. ³Instituto Nacional de Pesca, Centro Regional de Investigaciones Acuícolas y Pesqueras de Mazatlán, ⁴Universidad Politécnica de Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

La pesquería de sardina en México está dirigida a un grupo de peces denominados “pelágicos menores”, que habitan en aguas costeras y forman grandes cardúmenes, lo que ha propiciado a llevar a esta pesquería a nivel industrial (Rodríguez *et al.*, 1996). Este recurso es aprovechado principalmente en el noroeste del país, en la costa del Pacífico occidental en la Península de Baja California y dentro del Golfo de California, incluyendo Sonora, Sinaloa y Nayarit (Rodríguez *et al.*, 1996). Actualmente, la pesquería de sardina se posiciona en el primer lugar de producción pesquera en México en cuanto a volumen de captura, su volumen de producción contribuye hasta un 30% a la producción pesquera total anual a nivel nacional y un 10% en cuanto a valor económico (SAGARPA, 2017; D.O.F., 11/06/18).

La sardina es una importante fuente de energía y proteínas de calidad, por lo cual ha sido un recurso aprovechado por la industria principalmente para la elaboración de harinas y aceites de pescado (D.O.F., 11/06/18). Además de su valor económico, también tiene un importante valor ecológico ya que es consumidor primario y se coloca en los niveles básicos de las redes alimentarias, fungiendo como forraje para gran cantidad de especies (Merino, Barange y Mullon 2014).

La pesquería de sardina en México es multiespecífica, incluye alrededor de once especies que presentan hábitos y parámetros poblacionales similares y son de mismo interés comercial (D.O.F., 11/06/18). Esta pesquería se lleva a cabo principalmente en el noroeste del país, en la parte occidental de Baja California y dentro del Golfo de California y la composición de la captura por especies varía de acuerdo a la zona de pesca. En Mazatlán Sinaloa, desembarcan las capturas del sureste del Golfo de California, que incluye el sur de Sinaloa y Nayarit, donde las capturas están constituidas principalmente por sardina crinuda o complejo *Opisthonema* (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. mediraste*) en aproximadamente un 71% de la captura total y el resto por sardina bocona (Jacob *et al.*, 2011).

El manejo de esta pesquería ha sido todo un reto, debido a la gran variabilidad de las capturas que se ven afectadas por los factores ambientales (Lluch, Magallon y Schwartzlose, 1986). Sin embargo, se han logrado establecer medidas de manejo efectivas, tanto que en el

año 2016 se logró certificar la pesquería de sardina como una pesquería sustentable bajo los estándares de la MSC (Marine Stewardship Council), en el norte y sur del Golfo de California.

Uno de los aspectos más importantes a considerar dentro del manejo de una pesquería son los estudios acerca de reproducción debido a que se relaciona directamente con la ecología y la dinámica de las poblaciones (García, Claro y Koshelev, 1994). Estudios acerca de desarrollo gonadal, maduración sexual, ciclo reproductivo y fecundidad, son indispensables para el mejoramiento del manejo de los recursos. La técnica que evalúa con mayor precisión este tipo de estudios es mediante histología (West, 1990; Lowerre *et al.*, 2011). Sin embargo, esta técnica no es muy práctica ya que consume mucho tiempo y es costosa (West, 1990), por lo que algunos investigadores optan por utilizar escalas generalizadas para peces basadas en la forma, tamaño y coloración de las gónadas, como la propuesta por Nikolsky (1963). No obstante, se ha demostrado que esas escalas si no están validadas histológicamente podrían causar errores de interpretación de hasta el 100%, como resultó en un estudio de merluza *Merluccius productus* (Denton, 2018).

Se han realizado estudios en algunas especies de peces con historias de vida similares a las de la sardina crinuda, como en el pez *Peprilus medius*, en el que las gónadas presentan patrones morfocromáticos que permiten la identificación de las fases de desarrollo gonádico a partir de sus características macroscópicas, corroboradas mediante análisis histológicos (Maldonado *et al.*, 2017). De igual forma se han observado dichos patrones para especies con estilos de vida diferentes a los de la sardina como en *Sphoeroides annulatus* (Sánchez, 2007) y en *Occidentarius platypogon* (Denton, 2016).

Actualmente, para la evaluación del desarrollo gonádico de sardina crinuda se utiliza una escala modificada a partir de Rodríguez (1987), incorporando conocimiento empírico de los biólogos a bordo de estas embarcaciones, sin embargo, carece de validación histológica. Por tales motivos, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo diseñar una escala morfocromática de desarrollo gonádico validada histológicamente para las tres especies de sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. mediraste*) del sureste del Golfo de California. Con esto, se tendría una herramienta sencilla de usar en campo, pero con mayor certeza.

HIPÓTESIS

- Es posible distinguir de forma morfocromática las fases indiferenciado, inmaduro, desarrollo, en proceso de maduración, pre-desove y post-desove en la sardina crinuda.
- Los patrones de coloración de las gónadas son diferentes entre las especies de la sardina crinuda.

OBJETIVOS

Objetivo general

Diseñar una escala morfocromática del desarrollo gonadal validada histológicamente de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sur del Golfo de California, México.

Objetivo Particulares

- Describir el aparato reproductor de hembras y machos.
- Describir las fases de desarrollo ovárico y testicular.
- Describir el ciclo ovárico y testicular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreos

Mensualmente se realizan muestreos de un promedio de 90 organismos, desde agosto de 2018 hasta septiembre de 2019, a partir de la captura comercial de la flota industrial de pelágicos menores que opera en el sur del Golfo de California, desde el sur de Sinaloa hasta Nayarit, desembarcando en el puerto de Mazatlán, Sinaloa, y de la pesca incidental de los pescadores ribereños de la Isla de la Piedra, en Mazatlán, Sinaloa.

Una vez obtenidas las muestras, se procede a seleccionar 10 especímenes por intervalo de talla, de acuerdo al protocolo de muestreo estandarizado para pelágicos menores establecido por el Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera de Mazatlán (CRIAP-Mazatlán). Posteriormente se registra la longitud total (Lt) y el peso total (Pt) de cada espécimen, y se extrae la gónada, la cual es examinada para registrar sus características en fresco (coloración, consistencia, apariencia, vascularización, forma, posición, etc.), es pesada, fotografiada junto a una regla milimétrica y fijada en formalina al 10% durante 72 h, y posteriormente son lavadas se pasadas a alcohol al 50% para su preservación hasta su procesamiento histológico.

Para la identificación taxonómica de las especies se extrae el primer arco branquial de cada ejemplar, se seca, se almacena debidamente etiquetado y se traslada al CRIAP-Mazatlán para el diagnóstico a partir del conteo de branquiespinas de acuerdo a la clave taxonómica de Berry y Barrett (1963).

Descripción del aparato reproductor

Se describirá la estructura morfológica de ovarios y testículos a partir de sus características registradas en fresco, tales como su posición dentro de la cavidad visceral, órganos adyacentes, sus conexiones. Las descripciones serán complementadas con fotografías. Como referencia se utilizarán los documentos de Helfman et al. (2009), Maldonado et al. (2017), entre otros.

Proceso histológico

Se obtendrá una sección transversal de la parte media del lóbulo de cada gónada y se someterán al proceso de deshidratación, aclarado e impregnación en parafina y

posteriormente se incluirán en bloques de parafina. Se realizarán los cortes histológicos de 5µm de espesor y se teñirán con la técnica de tinción hematoxilina-eosina y finalmente se montarán en resina sintética para su preservación y posterior observación (Humason, 1979; Muñeton, Villalejo y García, 2000).

Desarrollo gonádico

El diagnóstico histológico se hará a partir de la observación de las laminillas mediante un microscopio óptico y se describirán las características celulares y tisulares de los tejidos. Las fases de desarrollo ovárico (FDO) y testicular (FDT) se asignarán considerando los criterios de autores como Cotero, Valles y Venegas (2015) para *Sardinops sagax*, así como los trabajos de Wallace y Selman (1981), Schulz et al. (2010), Gantias, Somarakis y Nunes (2014) y Reading, Sullivan y Schilling (2017) y con respecto a terminología los de Brown et al. (2011) y Lowerre et al. (2011). Las fases microscópicas asignadas se cotejarán con las características morfocromáticas para su validación.

Escala

Para el diseño de la escala se utilizarán como base las propuestas por otros autores como Maldonado et al. (2017). Se mencionarán las características histológicas y morfocromáticas más representativas de cada FDO y FDT, y se colocarán una o varias fotografías macroscópicas y microscópicas que representen gráficamente cada fase. Adicionalmente se obtendrán los valores RGB y se calcularán el índice gonadosomático y el índice gonadoalométrico para añadirlos a las descripciones de cada fase de desarrollo.

Valores RGB

Se obtendrán los valores RGB (Red, Green and Blue) a partir de las fotografías de las gónadas mediante el software de edición paint.net, realizando ajustes manuales (Maldonado et al., 2017).

Índice gonadosomático

El índice gonadosomático (IGS) indica el incremento en peso de la gónada conforme su estado de desarrollo, mediante la siguiente fórmula (Lasker y Giese, 1983):

$$\text{IGS} = \frac{\text{Peso de la gónada}}{\text{Peso total del organismo}} (100)$$

Índice gonadoalométrico

Se estimará la longitud de las gónadas a partir de las fotografías, utilizando el software de edición Sigma Scan Pro versión 5. Se calculará el índice gonadoalométrico (IGA), para definir si existe una relación entre el incremento en la longitud de la gónada y su fase de desarrollo a través de la siguiente fórmula:

$$\text{IGA} = \frac{\text{Longitud de la gónada}}{\text{Longitud patrón del organismo}} (100)$$

Descripción del ciclo gonádico

Se definirá la secuencia de las fases de desarrollo que experimentan los ovarios y testículos a nivel individual durante la vida reproductiva, considerando la secuencia lógica del desarrollo gonádico en congruencia con la gametogénesis (Wallace y Selman, 1981; Schulz et al., 2010; Reading, Sullivan y Schilling, 2017). Las rutas que puede tomar el desarrollo gonádico a nivel individual se definirán considerando los criterios establecidos la literatura científica, así como la información obtenida del diagnóstico histológico de las gónadas y se representará mediante un diagrama.

LITERATURA CITADA

- Berry F. H., Barrett I. 1963. *Análisis de las Branquiespinas y Denominación de las Especies del Arenque de Hebra Opisthonema*. Comisión Interamericana del Atún Tropical, 7(2): 190.
- Brown N. J., Wyanski D. M., Saborio F., Macewicz B. J., Lowerre S. K. 2011. *A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes*. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1): 52-70. DOI: 10.1080/19425120.2011.555724
- Cotero C. E., Valles H., Venegas B. 2015. *Biología reproductiva de la sardina del Pacífico Sardinops sagax de la costa occidental de Baja California, México*. *Ciencia Pesquera*, 23(2): 25-43.
- D.O.F. (11/06/18). *Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentable*. Diario Oficial de la Federación. Fecha de publicación 11 de junio de 2018.
- Denton J. 2016. *Aspectos Reproductivos de Occidentarius platypogon (Günther, 1864) (Ariidae) y Propuestas para el Manejo de la Pesquería de Mazatlán, México*. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 69pp.
- Denton J. 2018. *Agregaciones y Aspectos Reproductivos de la Merluza Merluccius Productus (Ayres, 1855) en el centro y norte del Golfo de California*. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 109pp.
- Ganias K., Somarakis S., Nunes C. 2014. *Reproductive Potential*, p. 79-121. En Ganias, K. (ed). *Biology and Ecology of Sardines and Anchovies*. CRC Press, Greece. 382 pp. ISBN: 978-1-4822-2856-4
- García A., Claro R., Koshelev B. V. 1994. *Reproducción*, p. 187-262. En Claro, R., (Ed.). *Ecology of the marine fishes of Cuba*. Instituto de Oceanología, Academia de Ciencias de Cuba; Centro de Investigaciones de Quintana Roo, México.
- Helfman G. S., Collette B. B., Facey D. E., Bowen B. W. 2009. *The diversity of fishes. Biology, Evolution and Ecology*. Wiley-Blackwell, E.U. 720 p. ISBN: 978-1-4051-2494-2
- Humason G. L. 1979. *Animal Tissue Techiques*, 4ta. Ed. W. H. Freeman y Co. San Francisco, 633p.
- Jacob M. L., Nevárez M., Márquez E., Valdez M. A., Gastelum R. E., Valdez P., Vallarta R. 2012. *Análisis de la Pesquería de Pelágicos Menores en el Sur del Golfo de*

- California, Durante el 2011. Informe Final de Investigación 2011, Instituto Nacional de Pesca. Mazatlán, Sinaloa, México, 44pp.
- Lasker R., Giese A. C. 1983. Nutrition of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. Hopkins Marine Station of Stanford University, Pacific Grove, California, 328-340p.
- Lluch D., Magallon F. J., Schwartzlose R.A. 1986. Large Fluctuations in the Sardine Fishery in the Gulf of California: Possible Causes. CalCOFI Reports, 27: 136-140.
- Lowerre S. K., Brown N. J., Murua H., Tomkiewicks J., Wyanski D. M., Saborio F. 2011. Emerging issues and methodological advances in fisheries reproductive biology. *Marine and Coastal Fisheries*, 3: 32-57. DOI: 10.1080/19425120.2011.555725
- Maldonado M. A., Sánchez R., Salcido L. A., Ramírez J. S. 2017. Gonadal Development of *Peprilus medius* (Peters, 1869) (Perciformes: Stromateidae) from Southeast of the Gulf of California, Mexico. *International Journal of Morphology*, 35(1): 56-61. DOI: 10.4067 / S0717-95022017000100011
- Merino G., Barange M., Mullon C. 2014. Role of Anchovies and Sardines as Reduction Fisheries in the World Fish Meal Production, p.285-307. En Ganias, K. (ed). *Biology and Ecology of Sardines and Anchovies*. CRC Press, Greece. 382 pp. ISBN: 978-1-4822-2856-4
- Muñeton M., Villalejo M., García G. 2000. *Manual de Técnicas Histológicas Aplicadas a Organismos Marinos*. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, Baja California Sur, México, 80p.
- Reading. B.J., Sullivan C.V., Schilling J. 2017. Vitellogenesis in Fishes. *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment*, 1: 635-646. DOI: 10.1016/B978-0-12-809633-8.03076-4
- Rodríguez G. 1987. Caracterización bioecológica de las tres especies de sardina crinuda (*Opisthonema libertate*, *O. bulleri* y *O. medirastre*) del Pacífico Mexicano. Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, Baja California, México. 139 p.
- Rodríguez R., Hernández S., Lluch D., Félix R., Ortega S., Villa A., Ponce G., Lluch D. 1996. Pesquería de Pelágicos Menores (Sardinias y Anchovetas), p. 317-350. En Casas-Valdez, M. y G. Ponce Días (eds.). *Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México.
- SAGARPA 2017. *Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca*, Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, 293pp.
- Sánchez R. 2007. *Estrategia Reproductiva de Sphoeroides annulatus (Jenyns, 1842) (Tetraodontidae) en la costa de Mazatlán, Sinaloa, México*. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, Baja California Sur, México. 82pp.

- Schulz R. W., De França L. R., Lareyre J. J., LeGac F., Chiarini H., Nobrega R. H., Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. *General and comparative endocrinology*, 165(3): 390-411. doi:10.1016/j.ygcen.2009.02.013
- Wallace R. A., Selman K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleost. *American Zoologist*, 21(1): 325-342.
- West G. 1990. Methods of Assessing Ovarian Development in Fishes: a Review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41, 199-222.

DESARROLLO LARVAL DE LA JAIBA *Callinectes arcuatus* ORDWAY 1863 EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Irma Vargas Téllez¹, Juan Francisco Arzola González¹ Genaro Diarte Plata².
Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Región Sur¹. emkirma_23@hotmail.com
Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional- Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional².

INTRODUCCIÓN

Son 16 las especies reconocidas mundialmente del género *Callinectes* (Mantelatto, et al., 2014). De acuerdo con Bembe, Liang, y Chung (2017) todas las especies del género *Callinectes* son comestibles. En el litoral del Pacífico, tres especies de este género se distribuyen desde el sur de California (EEUU) hasta Sudamérica, *Callinectes toxotes* (Ordway 1863), *Callinectes bellicosus* (Stimpson, 1859) y *Callinectes arcuatus* (Ordway, 1863; Vinuesa et al., 2015). Esta última, destaca en el Pacífico mexicano por el volumen de las capturas realizadas en los estados de Sinaloa y Sonora (Molina et al., 2006); es económicamente muy importante por su calidad alimenticia y los empleos que se generan en la pesca y cadena de comercialización (DOF, 2017) y es una alternativa de ingresos cuando el camarón se encuentra en veda. Actualmente provoca gran interés en diversos países la obtención de este crustáceo en su estado de “jaiba de concha suave” (Vega-Villasante, 2014), así como su utilización como carnada para la captura de otras especies de mayor valor comercial como el pulpo y la comercialización de pulpa de jaiba (Bacab-Cahuich et al., 2002); sin embargo se encuentra en su máximo sustentable (DOF, 2017), por lo que desarrollar su cultivo ofrece una opción para obtener, de forma controlada, los volúmenes para la finalidad que se persiga.

A pesar de la gran importancia de *C. arcuatus*, se sabe relativamente poco de las tasas de crecimiento y desarrollo de estas especies (Dittel y Epifanio, 1984). El ciclo de vida de esta jaiba comprende de una fase planctónica de desarrollo larval y una bentónica de mayor crecimiento y reproducción (Cesar et al., 2003). El desarrollo larval presenta 8 estadios de zoea y una megalopa, debido a estas múltiples etapas se requieren protocolos de alimentación y cría de larvas más elaborados (Zmora et al., 2005) si se desea realizar un cultivo. Se ha demostrado que la duración del estadio larval se ve afectado por una variedad de factores ambientales, incluida la temperatura (Sulkin y McKeen, 1989) y la salinidad (Arreola-Lizárraga et al., 2003; Sulkin, 1984).

Conjuntamente la calidad del agua para el cultivo de organismos acuáticos es de vital importancia pues si los niveles de cada uno de los parámetros físico-químicos no son los más adecuados provocará estrés e incluso debilitamiento del organismo acuático predisponiéndolo a ser atacado por algún patógeno o incluso causando mortalidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las jaiba *C. arcuatus* (Stimpson, 1859) es capturada en los estados de Sonora (5%) y Sinaloa (30%; DOF, 2017), actualmente operan 26 plantas procesadoras en Sinaloa y 34 en Sonora generando más de cuatro mil empleos permanentes y temporales por lo que constituyen un recurso importante por su calidad alimenticia y los empleos que se generan en la pesquería y cadena de comercialización, sin embargo, en Baja California Sur, Sonora y Sinaloa se encuentran en el máximo sustentable (DOF, 2017) debido a esto, es necesario impulsar desarrollos acuícolas que permitan implementar estrategias óptimas de manejo que consideren proteger tanto la población de jaiba como a los pescadores que dependen de ella. Debido a las múltiples etapas larvales de estos organismos, se requieren protocolos de alimentación y cría más elaborados. Teniendo en consideración lo anterior, en el presente estudio se trabajará el desarrollo larvario de *C. arcuatus*.

HIPÓTESIS

Se puede llevar a cabo el desarrollo larval *C. arcuatus* a nivel de laboratorio con hembras ovígeras obtenidas de un medio natural.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el desarrollo larval de *C. arcuatus* con diferentes temperaturas, salinidades y dietas, en condiciones de laboratorio con hembras ovígeras obtenidas de un medio natural.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la fecundidad y fertilidad de *C. arcuatus*
2. Determinar las condiciones de temperatura y salinidad óptimas para el desarrollo larval de *C. arcuatus*.
3. Evaluar tres dietas (micro algas, rotíferos y artemia) y determinar cual permite el mejor desarrollo larval de *C. arcuatus*.
4. Describir los estadios larvales obtenidos en el cultivo de *C. arcuatus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se capturarán 30 hembras ovígeras de *C. arcuatus* en bahía de Mazatlán, Sinaloa empleando aros jaiberos cebados con pescado (Diarte-Plata, 2016). Sólo se considerarán jaibas que presenten masas ovígeras de color café, debido a que esta coloración indica que los huevos están cerca de eclosionar (Vargas-Téllez y Vázquez- López, 2016).

Las hembras serán transportadas al laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Ciencias del Mar-UAS, en contenedores plásticos con agua del lugar y aireación constante.

Para calcular la fecundidad, se utilizará el método gravimétrico (Vargas-Téllez y Vázquez-López, 2016) para ello se tomarán tres muestras de 0.05 g de cada masa ovígera, posteriormente se contabilizará el número de huevos de cada muestra. Se pesará cada hembra con masa ovígera y se medirá el ancho y largo del caparazón, una vez eclosionados los huevos se pesará cada hembra para conocer el peso de la masa ovígera (Onyekachi y Bernard, 2014).

En los lugares de colecta se registrarán temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto, a la misma profundidad que se capturen los organismos y en la superficie. A nivel de laboratorio, las jaidas serán mantenidas en tinas de 80 L, una hembra por tina, para evitar desoves prematuros; las condiciones de salinidad, temperatura, pH y oxígeno disuelto serán las mismas que se registraron en el momento de la captura. Se utilizará un fotoperíodo natural. Las hembras serán alimentadas con filete de pescado diariamente *ad libitum*, los sobrantes serán retirados y se hará un recambio de agua del 5% diario para evitar el deterioro de la calidad del agua (Zmora et al., 2005). Los acuarios serán revisados diariamente en busca de larvas.

Una vez eclosionados los huevos, las hembras parentales serán retiradas y procesadas para determinar la fecundidad. Se evaluará la fertilidad tomando tres muestras de 50ml del agua de cada desove, posteriormente se contabilizarán el número de larvas y se extrapolara para estimar la fertilidad por hembra.

Para determinar las condiciones de temperatura y salinidad óptimas para el desarrollo larval de *C. arcuatus*, se formarán lotes de 100 larvas y se colocarán en contenedores con 1 L de agua filtrada de mar (Zmora et al., 2005) para los diferentes tratamientos. Todos los tratamientos tendrán cuatro replicas, se mantendrá un oxígeno disuelto superior a 5 mg/L y un pH entre 8 y 8.3 (Costlow y Bookhout, 1959; Dittel y Epifanio, 1984; Zmora et al., 2005). Se fijarán algunos organismos de la cuarta replica (en alcohol al 70%) de cada estadio para describirlos posteriormente. Se hará un recambio diario del 5% de agua filtrada con filtro carbono activado. Una vez que se alcance el estadio de megalopa, se colocarán 30 megalópas en pequeños contenedores con 500 mL.

Los tratamientos serán los siguientes (Tabla 1): 25 ups, 20° C; 25 ups, 25° C; 25 ups, 30° C; 30 ups, 20° C; 30 ups, 25° C; 30 ups, 30° C; 35 ups, 20° C; 35 ups, 25° C; 35 ups, 30° C y 40 ups, 20° C; 40 ups, 25° C; 40 ups, 30° C.

Tabla 1. Combinaciones de salinidad y temperatura de los tratamientos

Salinidad (ups)	25	25	25	30	30	30	35	35	35	40	40	40
Temperatura (° C)	20	25	30	20	25	30	20	25	30	20	25	30

Cada tratamiento será alimentado con rotíferos (*Brachionus rotundiformis* o *Brachionus*

plicatilis) con una densidad de 40 a 50 individuos / ml., con micro algas (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis sp.*, *Tetraselmis tetrathele* y *Chaetoceros gracilis*) (2.5 mg/ L), nauplios de artemia (*Artemia salina*; 300 individuos/ mL) y camaronina pulverizada.

Una vez determinada la condición de temperatura y salinidad óptima para el desarrollo larval de *C. arcuatus*, se evaluarán las dietas con el objetivo de conocer cual permite el mejor desarrollo larval de *C. arcuatus*. Para ello, se formarán lotes de 100 larvas y se colocarán en contenedores con 1 L de agua filtrada de mar con la salinidad y temperatura obtenida, oxígeno disuelto superior a 5 mg/L y pH entre 8 y 8.3. Todos los tratamientos tendrán tres replicas.

Las dietas serán las siguientes:

Microalgas (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis sp.*, *Tetraselmis tetrathele* y *Chaetoceros gracilis*) (2.5 mg/ L); rotíferos (*Brachionus rotundiformis* o *Brachionus plicatilis*; 40 a 50 individuos / ml); nauplios de artemia (*Artemia salina*; 300 individuos/ mL) y camaronina pulverizada, así como las posibles combinaciones de estas (Tabla 2).

Tabla 2. Dietas de los tratamientos

Dieta

Microalgas

Rotíferos

Nauplio de artemia

Camaronina pulverizada

Microalga + Rotífero

Microalga + Nauplio de artemia

Microalga + Camaronina pulverizada

Microalga + Rotífero + Nauplio de artemia

Microalga + Rotífero + Nauplio de artemia + camaronina pulverizada

Rotífero + Nauplio de artemia

Rotífero + Nauplio de artemia + Camaronina pulverizada

Nauplio de artemia + Camaronina pulverizada

Se hará un recambio diario del 5% de agua filtrada con filtro carbono activado. Una vez que se alcance el estadio de megalopa, se colocarán 30 megalópas en pequeños contenedores

con 500 mL de agua filtrada de mar a la temperatura y salinidad previamente mencionada hasta alcanzar el estadio de primer cangrejo (Dittel y Epifanio, 1984). Se observarán organismos de cada estadio al microscopio, se medirá la longitud total (del ápice de la espina rostral al telson) y se describirá la anatomía externa e interna de los estadios obtenidos del cultivo (Vázquez-López et al., 2017). Se llevará un registro diario de la supervivencia de las larvas para cada estadio. A los datos de fecundidad, fertilidad y a las morfometrías de las larvas de *C. arcuatus*, se les aplicará las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Bartlett para conocer si los datos se distribuyen de manera normal y homocedástica, respectivamente (Siegel y Castellan, 1995). Posteriormente un análisis de varianza (ANOVA) ($\alpha = 0.05$, significancia) para determinar si presentan diferencias significativas. A los datos de supervivencia de los tratamientos de salinidad- temperatura y dietas se les aplicará las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Bartlett para conocer si los datos se distribuyen de manera normal y homocedástica, respectivamente (Siegel y Castellan, 1995). Posteriormente un análisis de varianza (ANOVA) por bloques ($\alpha = 0.05$, significancia) para determinar si presentan diferencias significativas y finalmente una prueba de Tukey para encontrar que medias son significativamente diferentes entre sí.

LITERATURA CITADA

- Arreola-Lizárraga, J.A., Hernández-Moreno, L.G., Hernández-Vázquez, S., Flores-Verdugo, F.J., Lechuga-Devezé, C., Ortega-Rubio, A., 2003. Ecology of *Callinectes arcuatus* and *C. bellicosus* (Decapoda, Portunidae) in a coastal lagoon of northwest Mexico. *Crustaceana* 76, 651–664. <https://doi.org/10.1163/156854003322381487>
- Bacab-Cahuich, F.J., Amador-del Ángel, L.E., Valdés-Alonso, R., Rodríguez-Cabrera, P., 2002. Cultivo de larvas de la jaiba azul *Callinectes sapidus* en condiciones de laboratorio en la Isla del Carmen, Campeche, México. (México).
- Bembe, S., Liang, D., Chung, J.S., 2017. Optimal temperature and photoperiod for the spawning of blue crab, *Callinectes sapidus*, in captivity. *Aquac. Res.* 48, 5498–5505. <https://doi.org/10.1111/are.13366>
- Cesar, I.I., Armendáriz, L.C., Olalla, N., Tablado, A., 2003. The Blue Crab, *Callinectes sapidus* Rathbun, 1896 (Decapoda, Portunidae) in the Río de la Plata, Argentina. *Crustaceana* 76, 377–384.
- Costlow, J.D., Bookhout, C.G., 1959. The Larval Development of *Callinectes sapidus* Rathbun Reared in the Laboratory. *Biol. Bull.* 116, 373–396. <https://doi.org/10.2307/1538947>
- Diarte-Plata, G., 2016. Aspectos poblacionales de las jaibas del género *Callinectes* (Decapoda: Portunidae) en la laguna El Colorado, Ahome, Sinaloa, México (Tesis doctoral). Universidad Autónoma De Baja California Sur, La Paz, B. C. S, MÉXICO.
- Dittel, A.I., Epifanio, C.E., 1984. Growth and Development of the Portunid Crab *Callinectes arcuatus* Ordway: Zoeae, Megalopae, and Juveniles. *J. Crustac. Biol.* 4, 491–494. <https://doi.org/10.2307/1548044>

Onyekachi, E.M., Bernard, E., 2014. Food and feeding habits, growth pattern and fecundity of *Callinectes amnicola* in Lagos lagoon. *Adv. Plants Agric. Res.* 1, 1–0. <https://doi.org/10.15406/apar.2014.01.00005>

Sulkin, S., 1984. Behavioral basis of depth regulation in the larvae of brachyuran crabs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 15, 181–205. <https://doi.org/10.3354/meps015181>

Sulkin, S.D., McKeen, G.L., 1989. Laboratory study of survival and duration of individual zoeal stages as a function of temperature in the brachyuran crab *Cancer magister*. *Mar. Biol.* 103, 31–37. <https://doi.org/10.1007/BF00391062>

Vargas-Téllez, I., Vázquez- López, H., 2016. Fecundity of *Cardisoma crassum* Smith, 1870 in an estuary of the Mexican pacific. *BIOCYT Biol. Cienc. Tecnol.* 9, 632–641.

Vázquez-López, H., Cházaro-Olvera, S., Vargas-Téllez, I., Getzemany Molina-Ortega, M., 2017. Description of first zoeal stage of *Cardisoma crassum* Smith, 1870 (Crustacea: Decapoda: Gecarcinidae). *J. Nat. Hist.* 1–6. <https://doi.org/10.1080/00222933.2017.1302611>

Vega-Villasante, F., 2014. Manual técnico para la producción de jaiba suave en el pacifico mexicano.

Zmora, O., Findiesen, A., Stubblefield, J., Frenkel, V., Zohar, Y., 2005. Large-scale juvenile production of the blue crab *Callinectes sapidus*. *Aquaculture* 244, 129–139. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.012>

Modelación de las preferencias ambientales de marlín aguja corta *Tetrapturus angustirostris* del océano Pacífico oriental.

Gerónimo Jacobo Gilberto De La Vega Casillas, Emigdio Marín Enriquez, Víctor Cruz Escalona, Jorge Saúl Ramírez Pérez, Raúl Pérez Gonzalez, Mercedes Marlene Manzano Sarabia.

**Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar,
Universidad Autónoma de Sinaloa**

INTRODUCCIÓN

El grupo de peces conocidos como picudos pertenecen a dos grupos de familias, Istiophoridae (Marlín, pez vela y aguja) y la familia Xiphiidae (integrado únicamente por el pez espada, *Xiphia gladius*). Se considera que las dos familias de picudos es un taxón monofilético; son organismos pelágicos de gran tamaño que se distribuyen en aguas tropicales y templadas en los océanos del mundo. Se ha reportado que su distribución está regida principalmente por las variaciones estacionales e inter-anales de temperatura superficial del mar (TSM). Por ejemplo, Su *et al.* (2015) reportaron que el marlín azul (*Makaira nigricans*) prefiere habitar en aguas con TSM de 27 a 30° C. Martínez-Rincon *et al.* (2015) reportaron que las capturas del pez vela (*Istioptophorus platypterus*) son mayores cuando la TSM es >26° C. Las preferencias térmicas de algunos picudos son bien conocidas, sin embargo, las preferencias de algunos peces picudos se han explorado en menor medida (Boyce *et al.* 2008).

El marlín aguja corta (*Tetrapturus angustirostris*) es considerado uno de los depredadores tope de la cadena trófica (Lehodey 2004), es el organismo mas pequeño de la familia istiophoridae, con un promedio ~140 cm de longitud de horquilla a ojo y ~18 kg de peso. Estos organismos habitan en aguas templadas y tropicales en los océanos Pacífico e Índico, principalmente; Se le captura de forma incidental por las flotas de palangre, redes de cerco pesca de atún y ocasionalmente por la pesca deportiva con curricanes de superficie; se cree que el desove de *T. angustirostris* ocurre en invierno en aguas con TSM de ~25° C (Nakamura 1985). En el Océano Pacífico oriental se alimenta principalmente de peces. (Ménard *et al.* 2013). Collette *et al.* (2010), basándose en un análisis filogenético, recomendaron que los peces aguja deberían de ser clasificados en un mismo género (*Tetrapturus*) separados de todas las especies de marlín.

Los modelos de distribución de especies son herramientas que permiten evaluar como la especie de interés responde a cambios en el ambiente. Permiten también crear mapas de hábitat potencial; estos mapas han resultado ser una herramienta útil para evaluar rutas de migración potenciales de especies marinas altamente migratorias (Marín-Enriquez *et al.*, 2018).

JUSTIFICACIÓN

El conocimiento sobre la distribución y biología básica de este depredador del océano abierto es muy escaso; (Nakamura 1985) realizó una investigación para conocer las características y distribución de picudos en el mundo en colaboración con la FAO. Polovina *et al.* (2009) sugieren que es uno de los depredadores más pequeños en el Océano abierto posicionándose casi al tope de la red alimenticia; reportan también un declive de 3 – 9% la captura incidental del marlín aguja corta, en un análisis realizado con datos de 1996-2006 en la pesca de palangre en las costas de Hawái. La especie está catalogada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) como datos insuficientes, Dicho lo anterior, en este trabajo se plantea aportar al conocimiento de las preferencias ambientales, hábitat potencial y rutas migratorias de este pez altamente migratorio.

ANTECEDENTES

En 1985 se creó el primer catálogo por la FAO de picudos en el mundo: dentro de este catálogo, destaca el trabajo seminal de (Nakamura), quien investigó las características de diagnóstico, distribución geográfica, hábitat, biología, densidades, interés para las pesquerías y nombres locales de las distintas especies de peces de pico. Desde entonces han sido pocos los trabajos científicos publicados referentes al marlín aguja corta.

Polovina *et al.* (2009) analizaron la tasa de captura de las 13 especies más abundantes en la pesquería de palangre en las costas de Hawái, en la década de (1996-2006) donde evidencian una disminución en la captura del marlín aguja corta (*Tetrapturus angustirostris*) de un 3% a 9% anual.

Amandé *et al.* (2010) estudiaron la captura incidental de varios grupos de especies en el período de 2003 a 2007 en colaboración con la pesquería de atún de cerco que opera en el Océano Atlántico, donde el marlín aguja corta (*T. angustirostris*) representó solo el 0.3 % de la incidencia del organismo.

Shimose *et al.* (2010) monitorearon la pesca de palangre en el Océano Pacífico nororiental donde identificaron que el marlín aguja corta prefiere mantenerse en latitudes ~15° N y 20° N, donde parece alimentarse de peces de la familia Molidae.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El marlín aguja corta es uno de los depredadores más pequeños en el océano abierto posicionándose casi al tope de la cadena trófica. El conocimiento sobre las preferencias de hábitat, zonas de agregación y preferencias del hábitat, zonas de agregación y movimientos migratorios de esta especie es prácticamente nulo. En el presente estudio se utilizará una aproximación de modelado (MaxEnt), la cual es usada principalmente en especies terrestres, donde las condiciones son menos dinámicas que en los ecosistemas marinos. Se plantea aportar al conocimiento de la preferencia de hábitat y distribución potencial de la especie. Además, se evaluará que tan útil es la aproximación de modelado, cuando la especie objetivo es un pelágico altamente migratorio.

HIPÓTESIS

La aproximación de MaxEnt permitirá describir las preferencias ambientales y hábitat potencial del marlín aguja corta con la misma eficiencia reportada en estudios de modelación MaxEnt aplicado en organismos terrestres.

OBJETIVOS

General:

- Modelar la distribución espacio-temporal del marlín aguja corta (*T. angustirostris*) utilizando datos históricos (2002-2015).

Específicos:

- Describir la variación espacio-temporal del esfuerzo de la flota cerquera que pesca atún en el Océano Pacífico oriental.
- Describir las preferencias ambientales del marlín aguja corta.
- Contruir un modelo numérico que relacione los datos de ocurrencia del marlín aguja corta con diferentes variables, definiendo el hábitat idóneo de la especie.
- Hacer predicciones del hábitat potencial del organismo, en función de las condiciones mensuales promedio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizará una base de datos de 13 años (2002-2015) de ocurrencia del marlín aguja corta en el Océano Pacífico oriental tropical. Los datos obtenidos fueron recolectados por observadores científicos de la Comisión Interamericana del Atún tropical (CIAT), el organismo internacional responsable de la conservación de atunes y especies similares.

En este estudio se analizarán los datos de ocurrencia en buques cerqueros clase 6 con una capacidad de carga $> 435\text{m}^3$. La base de datos incluye el número de ocurrencias de marlín aguja corta, el tipo de lance (delfín, objeto flotante o brisa), el número total de lance con redes de cerco y coordenadas geográficas (latitud y longitud) agregadas en cuadrantes mensuales de $1^\circ \times 1^\circ$.

Se construirá un modelo MaxEnt utilizando las condiciones ambientales promedio. La eficiencia del modelo se evaluará mediante el área bajo la curva, estimando un valor para

cada una de la 100 vueltas de remuestreo (bootstrap) aleatorio de la base de datos pesqueros. Una vez comprobada la eficiencia del modelo, se evaluarán las curvas de efecto y el grado de aporte de cada una de las variables ambientales, con el fin de evaluar como el marlín aguja corta responde a cambios en el ambiente. Después, se realizará una predicción para las condiciones ambientales mensuales promedio. El resultado de este último análisis son 12 mapas mensuales (de enero a diciembre), en donde cada mapa denote la distribución potencial promedio del marlín aguja corta. Estos mapas servirán para ver si el hábitat potencial de este organismo varía espacio-temporalmente a lo largo del año, lo que a su vez servirá para hacer algunas inferencias de sus movimientos y rutas migratorias (Marín-Enriquez *et al.*, 2018).

LITURATURA CITADA

Amandè MJ, Ariz J, Chassot E, Delgado-de-Molina A, Gaertner D, Murua H, Pianet R, Ruiz J, Chavance P. 2010. Bycatch of the European tuna purse-seine fishery in the Atlantic Ocean for the 2003–2007 period. *Aquat. Living Resour.* 23(4): 353–362. <http://dx.doi.org/10.1051/alr/2011003>

Nakamura I. 1985. FAO species catalogue. Billfishes of the world: An annotated and illustrated catalogue of marlins, sailfishes, spearfishes and swordfishes known to date. *FAO Fish. Synop.* 125(5): 65 pp.

Polovina JJ, Abecassis M, Howell EA, Woodworth P. 2009. Increases in the relative abundance of mid-trophic level fishes concurrent with decline in apex predators in the subtropical North Pacific, 1996–2006. *Fish. Bull.* 107: 523–531.

Shimose T, Yokawa K, Saito H. 2010. Habitat and food partitioning of billfish (Xiphoidei). *J. Fish Biol.* 76(10): 2418–2433.

ASPECTOS POBLACIONALES DE LOS CRUSTÁCEOS BRAQUIUROS ASOCIADOS A LA PESCA DE LANGOSTA EN LA BAHÍA DE MAZATLÁN, SINALOA

José Abraham Gastélum Barrios¹, Juan Francisco Arzola González¹, José Salgado Barragán², Jesús Manuel Díaz Gaxiola³, José Adán Félix Ortiz¹, Raúl Pérez González¹

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Región Sur. jose_facimar@uas.edu.mx

²Instituto de Ciencias del Mar y Limnología ICMYL, Universidad Autónoma de México.

³Instituto Tecnológico de Los Mochis, TecNM.

INTRODUCCIÓN

Los miembros del subphylum crustacea son fundamentalmente acuáticos, dotados de mandíbulas y dos pares de antenas. Se encuentran entre los animales de mayor éxito, ya que dominan los mares, en gran medida como los insectos dominan la tierra, pero también han tenido éxito en el agua dulce y otros se encuentran en ambientes terrestres y húmedos (Brusca, 1980).

El cuerpo de un crustáceo se compone de tres regiones: cabeza o *cephalon*, tórax o *pereion* y abdomen o pleon. En los cangrejos, la cabeza y el tórax se fusionan para formar un cefalotórax o *cephalopereion*, mientras que el abdomen es pequeño y está plegado bajo la superficie ventral del cefalotórax, de modo que casi nada de él puede verse desde el dorso (Boschi, 2016).

Entre los crustáceos decápodos del Pacífico este tropical, los brachyura ocupan un lugar muy importante. De las aproximadamente 930 especies de decápodos conocidas para esta subregión zoogeográfica (desde bahía Magdalena, en la costa oeste de Baja California, y el golfo de California hasta Paita, Perú), unas 450 especies corresponden a los brachyura (Hendrickx, 1997).

Existen pocos estudios relacionados con los crustáceos braquiuros asociados a la pesca de langosta, la mayoría de las publicaciones relacionadas con este grupo de organismos hacen énfasis solamente en listados taxonómicos, distribución geográfica, batimetría (Hendrickx, 1993; 1995a; 1995b; 1997, 1999; Rodríguez, 1987).

Otros estudios realizados sobre los decápodos, especialmente en el sur de Sinaloa fueron efectuados en la zona intermareal de la bahía de Mazatlán y se centran específicamente en la ecología y estructura de comunidades (Orozco-Romo, 1980), (Chávez-Zaragoza, 1984), (Sánchez-Vargas, 1984).

Lim y Chavira (1995) encontraron 18 especies de decápodos asociados a la pesca de langosta de las cuales 14 fueron braquiuros, entre estas las más abundantes fueron *Calappa convexa*, *Aniculus elegans*, *Dardanus sinistripes* y *cronius ruber*.

Ayón (1997), realiza un trabajo relacionado con crustáceos decápodos asociados a la pesca de langosta, en donde obtiene un total de 32 especies, de las cuales las más frecuentes fueron *Calappa convexa*, *Hepatus kossmanni*, *Mithrax armatus* y *Euphyllax robustus*.

Estudios específicos enfocados en la estructura de tallas, talla de primera madurez, fecundidad, proporción de sexos, resaltan los estudios de Gutiérrez, *et al.* (2018), donde analizó la estructura de tallas y relaciones biométricas del cangrejo rojo *Grapsus grapsus*, en el cual obtuvo coeficientes de determinación altos entre las variables y estos presentaron un crecimiento isométrico y concluye que este organismo incrementa rápidamente de talla y lentamente de peso.

Por otra parte se tiene el estudio efectuado por Ayón y Hendrickx (2001) donde determinaron la abundancia relativa, la talla de primera madurez, la fecundidad de la especie *Calappa convexa* y analizaron las relaciones biométricas.

En los crustáceos la fecundidad permite estimar el estado reproductivo en que se encuentra la población y generalmente se ha definido como el número de huevos liberados por una hembra en un solo proceso de desove o durante un periodo determinado de su ciclo de vida ([Swartz, 1978](#)), o como el número de huevos contenidos bajo el abdomen de las hembras ([Stechey y Somers, 1995](#)).

Es conveniente tener en cuenta las diferentes perspectivas de la fecundidad, en la mayoría de los decápodos la hembra porta los huevos bajo el abdomen durante su desarrollo y esto permite estimar no solo la fecundidad, sino que, además, estudiar las características del huevo durante el desarrollo embrionario (Hernández y Palma, 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los crustáceos braquiuros pueden representar una nueva alternativa; si bien, este grupo de organismos no ha sido bien aprovechado, pudiera significar un potencial económico y alimenticio debido a las tallas considerables y por la frecuencia en que han sido capturados como fauna de acompañamiento en la pesquería de camarón, de escama y de langosta.

Por lo tanto se formuló la siguiente pregunta de investigación:

¿Resultará de interés comercial las tallas de las capturas de los braquiuros asociados a la pesca de langosta?

HIPÓTESIS

De acuerdo a la abundancia y tallas de las especies de crustáceos braquiuros asociados a la pesca de langosta, resultará como un recurso potencial pesquero.

Objetivo general:

Caracterizar la carcinofauna de braquiuros asociados a la pesca de langosta ribereña y posibles especies potenciales como recurso pesquero.

Objetivos específicos:

-Elaborar una lista sistemática de las especies de crustáceos braquiuros que aparecen asociados a la pesca de langosta

-Analizar la estructura de tallas y correlaciones biométricas

-Determinar la talla de primera madurez sexual de las hembras de las especies de interés potencial

-Determinar la fecundidad (mejorar la redacción de este objetivo)

-Determinar el tipo de crecimiento mediante la ecuación potencial de LT-PT, de los crustáceos braquiuros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las estaciones de recolecta corresponderán a las zonas de pesca utilizadas por los pescadores de Playa Norte y Cerritos en la ciudad de Mazatlán, Sinaloa, donde cada una será georreferenciada mediante el uso de un GPS.

Trabajo de campo

Para trasladarse a las zonas de muestreo, se utilizarán una embarcaciones de aproximadamente 8 m de eslora, con motor fuera de borda de 115 Hp. Para cada muestreo se realizará un lanzamiento de chinchorro construido de nylon de 1 000 m de largo, 2 m de caída dando un área de 2 000 m² y con una luz de malla de 3 pulgadas, el cual se arrojará entre las 5:00 pm y 6:00 pm y se levantará hasta el siguiente día entre las 6:00 am y 8:00 am.

Las colectas de cangrejos incluirán todos los organismos que sean capturados en las redes, posteriormente se registrará el número de organismos capturados por muestreo en una bitácora de campo. Con la finalidad de analizar las poblaciones, se registrarán las especies, proporción de machos, hembras, juveniles y ovígeras. A estos se les medirá el largo, ancho y altura del caparazón. En el caso de las hembras ovígeras, se hará un estimado de la cantidad de huevecillos para determinar la fecundidad.

Los organismos recolectados se depositarán en bolsas de plástico y serán etiquetados con datos de campo (fecha, hora, profundidad y observaciones), posteriormente las muestras se trasladarán dentro de una hielera al Laboratorio de Invertebrados y Ecología del Bentos de la Facultad de Ciencias del Mar, UAS. Su identificación taxonómica se realizará con literatura especializada (Hendrick, 1995a; Hendrick, 1997; Hendrickx, 1999).

Trabajo de laboratorio

Parámetros morfométricos

A los organismos se les medirá la longitud total (LT), anchura (AN) y altura (AL) del caparazón en mm, con un vernier digital marca Mitutoyo modelo CD-8''CS con una precisión de 1 mm y consistirán en: a) la anchura total (AN), distancia máxima lateral dorsal del cefalotórax del organismo; b) la longitud total (LT), medida desde la parte frontal hasta la parte posterior del caparazón; c) la altura total (AL), distancia máxima entre la región dorsal del cefalotórax y la región ventral del organismo.

Su peso total (PT) se registrará en gramos (g) con ayuda de una balanza digital marca Mettler Toledo modelo PB3001, para evitar una sobre evaluación del peso de los organismos, una vez que se descongelen se les retirará la mayor cantidad de humedad del cuerpo utilizando toallas absorbentes para luego pesarlos.

Con las medidas obtenidas del ancho del caparazón, se realizarán histogramas de frecuencia, que es una de las medidas que comúnmente se utilizan para el análisis de tallas en los organismos, por lo que no se considerarán para esta investigación el análisis de frecuencia de tallas para la altura y longitud.

Para la correlación entre AN-PT, se utilizará la ecuación potencial ($y = ax^b$), después se obtendrán los coeficientes de determinación (R^2) mediante las siguientes ecuaciones:

$$y=ax^b \quad (\text{Ricker, 1975})$$

Donde:

y= Peso total, longitud y/o anchura

a= Ordenada al origen

b= pendiente

x= Longitud

Proporción de sexos y talla de primera madurez

En los adultos, los sexos se diferenciarán por la forma del abdomen, ya que los machos presentan un abdomen estrecho y en las hembras éste es ancho hasta cubrir la mayor parte del esternón y lo utilizan para alojar los huevecillos. En los ejemplares juveniles, las hembras se diferenciarán por presentar pleópodos birrámeos, mientras que los machos se diferenciarán por presentar solamente un par de pleópodos modificados en estructuras peneanas. Se estimará la proporción de sexos y la proporción de hembras ovígeras y no ovígeras por especie.

Fecundidad

Para la estimación de la fecundidad, se cortará la masa ovígera de una hembra por especie, posteriormente se colocarán en charolas de aluminio previamente pesadas y se obtendrá su peso en fresco. Después se colocarán las masas ovígeras en un horno (previamente calibrado) a una temperatura de 60 °C por 30 minutos, dentro de este tiempo se homogenizarán constantemente los huevecillos en las cajas de Petri de tal forma que el secado de los huevos sea completo, homogéneo y en su totalidad.

Una vez secados los huevecillos, se pesarán nuevamente para determinar el peso seco de la masa ovígera. Para obtener el peso seco íntegro de los huevecillos, se le restará el peso de la charola de aluminio, después se obtendrán tres submuestras de 0.01 g al azar de cada masa ovígera y se depositarán por separado en tres cajas de Petri, luego se contará la totalidad de huevos por caja con un microscopio estereoscópico. Una vez obtenida la

cantidad de huevos en cada submuestra, se obtendrá el promedio de huevos de las tres lecturas y se extrapolará al peso seco total de la masa ovígera por cada hembra.

LITERATURA CITADA

- Ayón M. 1997. Crustáceos decápodos asociados a la pescada de langosta *Panulirus spp.* (White, 1847) en el sur de Sinaloa, México. Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. Tesis de Licenciatura. 92 p.
- Ayón M. y Hendrickx M. 2001. Biología y pesquería del cangrejo cajeta bola *Calappa convexa* De Saussure (Crustacea, Brachyura, Calappidae) en el sureste del Golfo de California, México. Ciencias Marinas 27 (4): 521-541. ISSN: 0185-3880
- Boschi E.E. 2016. Los crustáceos de interés pesquero y otras especies relevantes en los ecosistemas marinos. Mar del Plata: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero INIDEP. 271 p. ISBN 978-987-1443-11-6 (Tomo 6)
- Brusca R. C. 1980. Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of the California. Univ. Arizona Press, Tucson, Arizona. 2nd Ed. 513 p.
- Chávez Y. 1984. Ecología y fisiología de crustáceos decápodos en la zona intermareal rocosa de Punta Chile, Mazatlán, Sinaloa. Tesis de licenciatura. Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Guadalajara. 188 p. ISBN: 0-8165-0682-5
- Gutiérrez Y., Pérez R., Campos E., y Arzola J. F. 2018. Estructura de tallas y relaciones biométricas del cangrejo roca *Grapsus grapsus* en las islas Lobos, Venados y Pájaros, Sinaloa, México. Hidrobiológica 28 (1): 31-36. DOI: 10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2018v28n1/Arzola
- Hendrickx M. E. 1993. Crustáceos decápodos bentónicos del sur de Sinaloa. Anuales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México. Ser. Zool. 64(1): 1-16.
- Hendrickx M. E. 1995a. Guía para la identificación de las especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. Vol. 1 Plantas e Invertebrados. 646 p. ISBN: 92-5-303408-4
- Hendrickx M. E. 1995b. Checklist of brachyuran crabs (Crustacea:Decapoda) from the eastern tropical Pacific. Bulletin de l'institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, bulletin van het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen. Biologie, 65: 125-150.
- Hendrickx M. E. 1997. Los cangrejos braquiuros (Crustacea: Brachyura: Dromiidae hasta Leucosidae) del Pacífico mexicano. CONABIO-UNAM, 178 p. ISBN: 968-29-8883-7
- Hendrickx M. E. 1999. Los cangrejos braquiuros (Crustacea: Brachyura: Majoidea y Parthenopoidea) del Pacífico mexicano. CONABIO-UNAM, 274 p. 968-29-8884-5
- Hernández, P., Palma S. 2003. Fecundidad, volumen del huevo y rendimiento reproductivo de cinco especies de porcelánidos intermareales del norte de Chile (Decapoda, Porcellanidae). Investig. mar. v.31 n.2. 36-46 pp. doi.org/10.4067/S0717-71782003000200004

- Lim M., Chavira M. 1995. Crustáceos decápodos asociados a la pesca de langosta en el sur de Sinaloa. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. 67 p.
- Orozco M. L. 1980. Estudio de macrobentos de la bahía de Mazatlán Sinaloa (con referencias especiales a peces, equinodermos, crustáceos y moluscos en relación con la temperatura, salinidad, profundidad y tipo de sustrato). Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología, Universidad Autónoma de Guadalajara. 143p.
- Ricker W.E. 1975. Computation and interpretation on biological statistics of fish populations. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, 191: 1-382pp.
- Rodríguez de La Cruz M. C. 1987. Crustáceos decápodos del golfo de California. Sría. Pesca (Ed.), México, D. F. 306 pp.
- Sánchez P. 1984. Ecología y estructura de las comunidades de moluscos y crustáceos decápodos en la ensenada de Puerto Viejo, Mazatlán, Sinaloa. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Guadalajara. 186p.
- Stechey D. Somers K. 1995. Potential, realized, and actual fecundity in the crayfish *Orconectes imunis* from southwestern Ontario. Can. J. Zool., 73: 672-677.
- Swartz R. 1978. Reproductive and molt cycles in the xanthid crab *Neopanope sayi*. 34 (15:32)

FLUENSULFONE, FLUOPYRAM Y ABAMECTINA PARA EL MANEJO DE *Meloidogyne* spp. EN EL CULTIVO DE TOMATE.

Ricardo Castro López¹, Moisés Gilberto Yáñez Juárez², Tirzo Paúl Godoy Angulo², Roberto Gastélum Luque², Juan Eulogio Guerra Liera², Jorge Fabio Inzunza Castro², Idalia Enríquez Verdugo³.

¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias

ricardo_castro_lopez_80@hotmail.com. ²Profesores-Investigadores de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. ³Profesora-Investigadora de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa

RESUMEN

Entre los factores que limitan la producción de tomate están los nematodos fitoparásitos, de estos, el nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.) es el que más reduce la calidad y cantidad de su producción, por tanto, se consideró conveniente realizar el presente estudio con el objetivo de investigar el efecto de fluensulfone, fluopyram y abamectina aplicados solos o alternados, para el manejo del nematodo agallador en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero. Este trabajo se estableció en la Facultad de Agronomía en suelo infestado por *Meloidogyne* spp., bajo un diseño en bloques completos al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. Las variables evaluadas fueron grado de agallamiento radical, altura de planta, diámetro de tallo y peso fresco de la parte aérea, la cuantificación de las variables se realizó al concluir el ciclo del cultivo. Los resultados indicaron que las plantas tratadas con aplicaciones alternadas de fluensulfone, fluopyram y abamectina, manifestaron el menor índice de agallamiento y el mejor desarrollo vegetal; la aplicación individual de fluopyram logro disminuir los síntomas de la enfermedad significativamente, por otra parte, la abamectina aplicada de manera individual no contribuyó en la disminución del agallamiento radical, y también se vio afectado el desarrollo de las plantas evaluadas. Finalmente, todos los tratamientos que poseían fluensulfone y/o fluopyram contribuyeron en un menor índice de agallamiento las plantas infectadas por el nematodo agallador sin nematicida.

Palabras clave: Meloidogyne, fluensulfone y flupopyram

ABSTRACT

Among the factors that limit the tomato production are the phytoparasitic nematodes, of these, the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) is the one that reduces the quality and quantity of its production, therefore, it was considered convenient to carry out the present work with the objective of investigate the effect of fluensulfone, fluopyram and abamectin applied alone or alternating, for the management of the root-knot nematode in tomato cultivation under greenhouse conditions. This work was established in the Faculty of Agronomy in soil infested by *Meloidogyne* spp., a randomized complete block design was used with eight treatments and four replications. The evaluated variables were root galling degree, height of plant, diameter stem and fresh weight of stem and leaf, the quantification of the variables was carried out at the end of the crop cycle. The results indicated that the plants treated with alternate applications of fluensulfone, fluopyram and abamectin, showed the

lowest galling index and the best growth; the individual application of fluopyram managed to reduce the symptoms of the disease significantly, on the other hand, abamectin did not contribute to the decrease in root galling, and the growth plants evaluated was also affected. Finally, all the treatments that possessed fluensulfone and/or fluopyram contributed in a lower rate of galling and development than the plants infected by the root-knot nematode without nematicide.

INTRODUCCIÓN

La importancia del cultivo de tomate está dada por la superficie destinada a su cultivo y el alto consumo en México y a nivel mundial, los principales países productores son China, India y Turquía, los cuales aportan casi el 50% de la producción mundial la cual asciende a 182,301,395 t. México ocupa el doceavo lugar a nivel mundial con una producción total de 4,243,058 t. Sinaloa se mantuvo como el mayor estado productor a nivel nacional en 2018 y aportó 813,095 t del total nacional, este producto está destinado principalmente para exportación al mercado de Estados Unidos (FAO 2019; SIAP, 2019). Sin embargo, el cultivo de tomate es afectado por diversos factores que limitan tanto su producción como su comercialización, entre los que podemos encontrar distintas plagas y enfermedades, estas últimas pueden ser causadas por diferentes organismos patogénicos como son hongos, bacterias, virus y nematodos fitoparásitos, en este último grupo, se encuentra el nematodo agallador del género *Meloidogyne* spp., el cual afecta adversamente el desarrollo de las plantas y causa pérdidas muy importantes en diferentes cultivos agrícolas en el mundo (Reddy, 2008).

Entre los nematodos fitoparásitos, el de mayor importancia es *Meloidogyne* spp. porque es capaz de reducir el rendimiento en un 12.3 % en los 40 principales cultivos a nivel mundial (Sasser y Freckman, 1987). Entre las especies reportadas en México están *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* y *M. hapla*, en el estado de Sinaloa recientemente se reporta a *M. enterolobii* afectando cultivos de tomate y chile (Cid del Prado, 2001; Martínez *et al.*, 2015 y Villar *et al.*, 2016).

El nematodo agallador es un parásito obligado, se aloja dentro del tejido radical de las plantas e induce la formación de agallas, y como consecuencia de este daño, en la parte aérea de las plantas se puede apreciar una reducción en el vigor, marchitamientos, clorosis y deficiencias nutricionales (Shazad *et al.*, 2011); por tanto, las diferentes especies de *Meloidogyne* provocan cuantiosas pérdidas en diferentes cultivos, aunque los daños son más evidentes en hortalizas, estimaciones específicas de reducción en el rendimiento por *M. javanica* y *M. incognita* varían del 17 al 20 % en berenjena, del 18 al 30 % en melón, 25 % en papa, y en tomate fluctúa del 24 al 38 % (Sasser y Freckman, 1987; Kathy, 2000).

Gilma *et al.* (2017) menciona que una aplicación de Pic-Clor 60 a dosis de 280 kg h⁻¹ combinado con aplicaciones de fluensulfone a 1.96 y 2.80 kg i.a. ha⁻¹ disminuye la densidad poblacional del nematodo agallador hasta un 96 % comparado cuando Pic-Clor 60 es aplicado solo, también aplicaciones combinadas de los dos compuestos disminuyeron el grado de agallamiento hasta un 90 %.

Entre los compuestos disponibles para el manejo de nematodos destaca la abamectina la cual es una mezcla de avermectina B1a y B1b (Burg *et al.*, 1979; Egerton *et al.*, 1979; Miller *et al.*, 1979). Un estudio reciente realizado en macetas menciona que aplicaciones al suelo de avermectina a dosis de 0.0025 g i.a. reduce significativamente el índice de agallamiento y la población de *Meloidogyne incognita* en tomate (Saad *et al.*, 2017). Las avermectinas actúan sobre el ácido amino butírico bloqueando los canales de cloruro no activados por neurotransmisores, causando un desequilibrio de iones en el sistema nervioso, dando lugar a la parálisis (Jansson and Dybas, 1998).

Otro nematicida es el fluensulfone (Nimitz 480 CE), un producto sistémico no fumigante que posee actividad nematicida sobre el género *Meloidogyne*, actúa por contacto, impide la eclosión de los huevos, reduce la movilidad, inhibe la alimentación y disminuye la capacidad infectiva de los nematodos; no provoca hipercontracciones como sucede cuando se exponen a los nematicidas organofosforados y carbamatos, lo cual sugiere un modo de acción distinto a estos grupos químicos (Kearn *et al.*, 2014); aplicaciones de fluensulfone previas al planteo redujeron el índice de agallamiento y el número de juveniles de *Meloidogyne* por gramo de suelo, sin embargo, aplicaciones foliares a concentraciones de 3, 6, y 12 g i.a. L⁻¹ causaron fitotoxicidad (Morris *et al.*, 2016). Los resultados de otra investigación indicaron que con 2.0 mg de i.a. L⁻¹ de fluensulfone en el suelo cuatro días antes del planteo disminuyeron las poblaciones de *Pratylenchus penetrans* y *P. thornei* en lechuga y garbanzo respectivamente (Oka, 2014).

De igual manera, existen reportes de la actividad nematicida de fluopyram, este producto en los nematodos afecta la respiración de las cadenas mitocondriales e induce a un rápido y severo agotamiento de la energía celular del nematodo (Broeksma *et al.*, 2014). También se ha demostrado que fluopyram a bajas concentraciones puede inhibir la infección radical causada por *M. incognita* y *Rotylenchulus reniformis*, ya que este nematicida puede perturbar la quimiorrecepción y la habilidad de ambas especies de nematodos para encontrar las raíces (Haydock *et al.*, 2013). Asimismo, Jones *et al.* 2017) menciona que aplicaciones de 0.22 g i.a. L⁻¹ de fluopyram en el cultivo de haba redujeron las poblaciones del nematodo agallador e incrementan el rendimiento respecto al testigo.

Con base en la información anterior se consideró conveniente realizar la siguiente investigación cuya hipótesis y objetivos se indican a continuación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente los problemas derivados del ataque nematodo agallador se han incrementado debido a la poca eficacia de las alternativas disponibles, por otra parte, los nematicidas químicos no fumigantes más ampliamente usados son carbamatos y organofosforados, y es reconocido su efecto toxico (Rich *et al.*, 2004). Investigaciones recientes demostraron que compuestos sintetizados con acción nematicida aplicados individualmente no ofrecen un óptimo manejo de *Meloidogyne* (Di Gioa *et al.*, 2016), por tanto, es pertinente investigar sobre la factibilidad de la combinación de tácticas o compuestos con diferente modo de

acción que resulten en mayor control y permita aumentar la sustentabilidad en el cultivo de tomate.

HIPÓTESIS

Con aplicaciones alternadas de fluensulfone, abamectina y fluopyram se mejora significativamente el manejo del nematodo agallador en el cultivo de tomate bajo condiciones de invernadero en comparación con aplicaciones individuales.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la respuesta a los compuestos fluensulfone, fluopyram y abamectina aplicados solos o alternados, sobre la severidad y la respuesta al desarrollo de plantas de tomate afectadas por *Meloidogyne*.

Objetivos específicos

1. Determinar el agallamiento en plantas de tomate cultivadas en suelo con *Meloidogyne* y con tratamiento individual o alternado con fluensulfone, abamectina y fluopyram.
2. Cuantificar la altura de planta, diámetro de tallo y peso fresco en plantas tratadas con fluensulfone, abamectina y fluopyram de manera individual o alternados.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue realizada en uno de los invernaderos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Las plántulas de tomate utilizadas fueron del cultivar Moctezuma y el planteo se realizó el 14 de enero de 2017.

El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar con ocho tratamientos y 4 repeticiones, cada unidad experimental útil constó de una cama de 3.0 m de longitud y 1.6 m de ancho, misma que se inoculó con *Meloidogyne* spp. quince días antes del planteo. Los tratamientos considerados en este experimento se indican a continuación:

1. FLE 960 g i.a. h⁻¹ 12 DAT+ FLO 500 g i.a. h⁻¹ 28, 73 DDT + ABA 75 g i.a. h⁻¹ 56 DDT.
2. FLE 960 g i.a. h⁻¹ 12 DAT+ FLO 500 g i.a. h⁻¹ 28, 56 DDT.
3. FLE 960 g i.a. h⁻¹ 12 DAT+ ABA 6.76 g i.a. h⁻¹ 28, 62, 79 DDT.
4. FLE 960 g i.a. h⁻¹ 12 DAT.
5. FLO 500 g i.a. h⁻¹ 2, 30, 58 DDT.
6. ABA 75 g i.a. h⁻¹ 2, 19, 36, 53, 70 DDT.
7. Testigo con *Meloidogyne*.
8. Testigo sin *Meloidogyne*.

DAT: días antes del trasplante; DDT: días después del trasplante; FLE: fluensulfone; FLO: fluopyram; ABA: abamectina.

Las variables evaluadas fueron agallamiento radical, altura de planta, diámetro de tallo y peso fresco de la parte aérea, la cuantificación de las variables se realizó al concluir el ciclo del cultivo.

Grado de agallamiento radical (%)

Las plantas se cortaron a la altura del primer entrenudo, posteriormente se extrajo la raíz del suelo y se lavó en agua corriente para facilitar la observación de la raíz con los síntomas típicos de *Meloidogyne*. Para la evaluación de la variable se consideró la cantidad de sistema radical con presencia de agallas y el total de la raíz por planta en cada unidad experimental.

Altura de la planta (cm)

Para realizar la evaluación de esta variable, se midió la distancia de la planta desde el cuello hasta el ápice de la misma. La cuantificación se efectuó usando una cinta métrica flexible para facilitar su medición.

Diámetro de tallo (mm)

La medición del diámetro de tallo se realizó con un vernier digital a la altura del primer entrenudo de la planta.

Peso fresco de la parte aérea (g)

Inmediatamente después de cortar las plantas, se introdujeron en bolsas de papel para ser pesadas en una balanza triple en las instalaciones del laboratorio de nematología de la Facultad de Agronomía.

Los datos obtenidos que cumplieron los supuestos de homogeneidad y normalidad fueron sometidos a un análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey, los datos que no cumplieron fueron analizados con estadística no paramétrica a través de la prueba de rangos de Friedman (Castillo, 2000; Ramírez y López, 1993). El programa estadístico utilizado fue Statistical Analysis System (SAS).

RESULTADOS

Grado de agallamiento radical (%)

Las plantas que manifestaron el menor grado de agallamiento (GA) fueron las tratadas con FLE 12 DAT + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT, fue estadísticamente superior al Testigo sin *Meloidogyne* e inferior ($P \leq 0.05$) en 83 puntos porcentuales al registrado en las plantas inoculadas con el nematodo; por otra parte, el GA registrado en FLO 2, 30, 58 DDT, fue similar estadísticamente a FLE 12 DAT e inferior en 67.7 puntos porcentuales al registrado en las plantas testigo con *Meloidogyne*, a su vez el GA obtenido en FLE 12 DAT y FLE 12 DAT + FLO 28, 56 DDT fue estadísticamente semejante e inferior en 61.5 y 55.03 puntos porcentuales respectivamente al registrado en las plantas inoculadas con el nematodo. El GA registrado en FLE 12 DAT + ABA 28, 62, 79 DDT y ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT, no manifestó una diferencia estadística, sin embargo, solo el efecto logrado por ABA fue similar al Testigo con *Meloidogyne* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Grado de agallamiento radical de plantas de tomate cv “*Moctezuma*”. Culiacán, Sinaloa, México, 2017.

Tratamientos	Grado de agallamiento radical (%)			
1. FLE + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT	13.50 ^w	2.0 ^x		E ^y
2. FLE + FLO 28, 56 DDT	41.47	4.0		C
3. FLE + ABA 28 62, 79 DDT	72.95	6.0	B	
4. FLE	35.25	4.5	C	D
5. FLO 2, 30, 58 DDT	28.80	3.5		D
6. ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT	83.51	7.5	A B	
7. <u>Testigo con <i>Meloidogyne</i></u>	96.50	7.5	A	
8. <u>Testigo sin <i>Meloidogyne</i></u>	0.0	1.0		F

^w Media, ^x Suma de rangos, ^y Suma de rangos con diferente literal son estadísticamente diferentes Friedman (Pr < 0.05).

DDT; días después del trasplante, FLE; fluensulfone 960 g i.a. h⁻¹ 12 días antes del trasplante, FLO; fluopyram 500 g i.a. h⁻¹, ABA; abamectina 75 g i.a. h⁻¹.

Altura de planta (cm)

La mayor altura de planta (AP) se registró en las plantas tratadas con FLE 12 DAT + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT, fue estadísticamente semejante ($P \leq 0.05$) a la AP de las tratadas con FLE 12 DAT + FLO 28, 56 DDT y las plantas testigo sin nematodo. Por efecto del nematodo y ABA, la AP fue significativamente inferior en 107 y 105 cm, respectivamente, en comparación con la AP de las plantas testigo sin *Meloidogyne*; también, la AP fue inferior en las plantas tratadas con FLO 2, 30, 58 DDT; FLE 12 DAT + ABA 28 62, 79 DDT; y FLE 12 DAT, sin embargo, fueron estadísticamente semejantes, pero esas últimas estadísticamente diferentes a la AP lograda con FLE 12 DAT + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT (cuadro 2).

Diámetro de tallo (mm)

El mayor diámetro de tallo (DT) 200 DDT se obtuvo con FLE 12 DAT + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT y fue estadísticamente semejante ($Pr \leq 0.05$) al de las plantas testigo sin *Meloidogyne* y los tratamientos con FLE 12 DAT+ FLO 28, 56 DDT, FLE 12 DAT y FLO 2, 30, 58 DDT; y estadísticamente superior en 2.1, 2.1 y 2.9 mm al DT logrado con FLE 12 DAT + ABA 28, 62, 79 DDT, testigo inoculado con el nematodo y tratadas con ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT, respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 2. Altura de planta de tomate cv “*Moctezuma*”. Culiacán, Sinaloa, México, 2017.

Tratamientos	Altura de planta (cm)	
1. FLE + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT	560	A _y
2. FLE + FLO 28 y 56 DDT	517	A B
3. FLE + ABA 28 62 y 79 DDT	471	B
4. FLE	471	B
5. FLO 2, 30, 58 DDT	491	B
6. ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT	400	C
7. <u>Testigo con <i>Meloidogyne</i></u>	398	C
8. <u>Testigo sin <i>Meloidogyne</i></u>	505	A B

^yMedias con diferente literal son estadísticamente diferentes Tukey (Pr < 0.05).

DAT; días antes del trasplante, DDT; días después del trasplante, FLE; fluensulfone 960 g i.a. h⁻¹ 12 DAT, FLO; fluopyram 500 g i.a. h⁻¹, ABA; abamectina 75 g i.a. h⁻¹.

Cuadro 3. Diámetro de tallo de tomate cv “*Moctezuma*”. Culiacán, Sinaloa, México, 2017.

Tratamientos	Diámetro (mm)	
1. FLE + FLO 28 , 73 DDT + ABA 56 DDT	13.1	A _y
2. FLE + FLO 28, 56 DDT	12.4	A B
3. FLE + ABA 28, 62, 79 DDT	11.0	B C
4. FLE	12.2	A B
5. FLO 2, 30 y 58 DDT	11.7	A B C
6. ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT	10.2	C
7. <u>Testigo con <i>Meloidogyne</i></u>	11.0	B C
8. <u>Testigo sin <i>Meloidogyne</i></u>	12.9	A

^yMedia con diferente literal son estadísticamente diferentes Tukey (Pr < 0.05).

DDT; días después del trasplante, FLE; fluensulfone 960 g i.a. h⁻¹ 12 días antes del trasplante, FLO; fluopyram 500 g i.a. h⁻¹, ABA; abamectina 75 g i.a. h⁻¹.

Peso fresco de la parte aérea (g)

El mayor peso fresco (PF) se registró en las plantas que recibieron el tratamiento FLE 12 DAT + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT mismo que sólo fue estadísticamente semejante al PF de las plantas testigo sin *Meloidogyne*. Con FLE 12 DAT + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT el PF fue superior en 705.3 g al registrado en las plantas inoculadas con el nematodo y hasta 372.3 g superior al obtenido con FLE 12 DAT + ABA 28 62, 79 DDT (Cuadro 4). Con FLO 2, 30, 58 DDT el PF fue significativamente superior en 683.3, 561.1 y 228.1 g al logrado con los respectivos tratamientos de ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT, [Testigo con *Meloidogyne* y FLE + ABA 28, 62,79 DDT](#), en cambio, fue estadísticamente semejante al obtenido con FLE 12 DAT + FLO 28, 56 DDT y FLE 12 DAT (Cuadro 4).

Cuadro 4. Peso fresco de la parte aérea de tomate cv “*Moctezuma*”. Culiacán, Sinaloa, México, 2017.

Tratamientos	Peso fresco (g)		
1. FLE + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT	1045.8 ^w	7.25 ^x	A _y
2. FLE + FLO 28, 56 DDT	848.1	5.0	B
3. FLE + ABA 28, 62,79 DDT	673.5	3.0	C
4. FLE	840.8	5.25	B
5. FLO 2, 30, 58 DDT	901.6	5.25	B
6. ABA 2, 19, 36, 53, 70 DDT	218.3	2.0	D
7. <u>Testigo con <i>Meloidogyne</i></u>	340.5	1.0	C D
8. <u>Testigo sin <i>Meloidogyne</i></u>	984.5	7.25	A

^w Media, ^x Suma de rangos, ^ySuma de rangos con diferente literal son estadísticamente diferentes Friedman (Pr < 0.05).

DDT; días después del trasplante, FLE; fluensulfone 960 g i.a. h⁻¹ 12 días antes del trasplante, FLO; fluopyram 500 g i.a. h⁻¹, ABA; abamectina 75 g i.a. h⁻¹.

De acuerdo con la información anterior con FLE + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT se logró el menor GA sin afectar AT, DT y PF en las plantas tratadas; con FLE + FLO 28, 56 DDT el GA fue significativamente disminuido en relación al GA de las plantas testigo con *Meloidogyne* pero se afectó DT y PF de las plantas, resultados semejantes se registraron con FLE + ABA 28, 62,79 DDT sólo que además se afectó la AP.

Los resultados obtenidos con FLE, FLO y ABA empleados de manera individual fueron significativamente inferiores a los obtenidos con FLE + FLO 28, 73 DDT + ABA 56 DDT. Estos resultados son congruentes con lo descrito por Ijani *et al.* (2000) quienes señalan que el uso de varias alternativas de control combinadas o en alternadas, suele ser más efectivo que su uso individual.

CONCLUSIÓN

Con aplicaciones alternadas de fluensulfone, fluopyran, y abamectina se disminuyó el grado de agallamiento radical sin afectar altura de planta, diámetro de tallo y peso fresco de la parte aérea de las plantas tratadas.

LITERATURA CITADA

- Shazad, S., Anwar, S. A., McKenry, M. V., Sahi, S. T., Abid, N., and Ghaffor. B. 2011. Meloidogyne incognita Infecting Two Perennial Ornamentals. *Pakistan J. Zool.*, vol. 43(2), pp. 337-342. **ISSN:** 0030-9923; [http://zsp.com.pk/337-342%20\(18\)%20PJZ-470-10.pdf](http://zsp.com.pk/337-342%20(18)%20PJZ-470-10.pdf)
- Broeskma A., Puetzkhul K., Lamprecht S., Fuersch H. 2014. Velum-A evolutionary nematicide for efficient crop production. In abstracts *Journal of Nematology*. 46 (2): 130-260. **ISSN:** 0022-300X; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4077174/>
- Burg R.W., Miller B.M., Barker, E.E. 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. *Antimicrob Agents Chemother* 15:361-367. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC352666/pdf/aac00273-0045.pdf>
- Castillo, M. L. E. 2000. Introducción a la estadística experimental. Universidad Autónoma Chapingo. México. 263 p. **ISBN:** 978-607-12-0015-0
- Cid del Prado V.I., Tovar S.A., Hernández J.A. 2001. Distribución de especies y razas de *Meoloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 32: 19: 32-39. **ISSN:** 0185-3309; <https://www.redalyc.org/pdf/612/61219105.pdf>
- Di Gioia, F., Ozores-Hampton, M., Hong, J., Kokalis-Burelle, N., Albano, J., Zhao, X., Black, Z., Gao, Z., Wilson, C., Thomas, J., Moore, K., Swisher, M., Guo, H., Roskopf, E., 2016. The effects of anaerobic soil disinfestation on weed and nematode control, fruit yield, and quality of Florida fresh-market tomato. *HortScience* 51, 703-711. **ISSN:** 0018-5345; DOI: 10.21273/HORTSCI.51.6.703
- Egerton J.R., Ostlind D.A., Blair L.S., Eary C., Suhayda D., Cifelli S., Rick RF., Campbell WC. 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: efficacy of the Bla component. *Antimicrob Agents Chemother* 15:372-378. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/464563>
- FAO, 2019. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Consultado 25 de enero de 2019.
- Gilma X.C., Ozores-Hampton M., Navia G.P.A. 2017. Effects of fluensulfone combined with soil fumigation on root-knot nematodes and fruit yield of drip-irrigated fresh-market tomatoes. *Crop Protection* 98; 66-171. **ISSN:** 0261-2194; DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.029>

- Haydock P.P.j., Woods S.R., Grove I.G., Hare M.C. 2013. Chemical control of nematodes, *in* Perry R.N. and Moens, eds. *Plant nematology*, 2nd ed. Wallingford: CABI Publishing. Pp. 459-479. ISBN: 978-1-78064-151-5
- Ijani A.S.M., Mabagala R.B., and Nchimbi-Msolla S. 2000. Efficacy of different control methods applied separately and in combination in managing root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in common beans. *European Journal of Plant Pathology* 106: 1–10. ISSN: 1573-8469; DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008788805581>
- Jansson, R. K., and Dybas, R. A. 1998. Avermectins: Biochemical mode of action, biological activity and agricultural importance. Pp. 152–167 *in* I. Ishaaya and D. Degheele, eds. *Insecticides with novel modes of action: Mechanisms and application*. New York: Springer-Verlag. ISBN: 978-3-662-03-565-8
- Jones, G.K., Kleczewski, M.N., Desaeger, J. y Meyer, L.F.S. 2017. Evaluation of nematicides for southern root-knot nematode management in lima bean. *Crop Protection*, 96, 151-157. ISSN: 0261-2194; DOI: 10.1016/j.cropro.2017.02.015
- Kathy M. 2000. Root-parasitic nematode host range and damage levels on Oregon vegetable crops: a literatura survey. Nematode Testing Service, Extension Plant Pathology, Oregon. http://plant-clinic.bpp.oregonstate.edu/files/plant_clinic/webfm/nematodes/vegetable_crops/index.pdf
- Kearn J., Ludlow E., Dillon J., O'Connor V., Holden-Dye L. 2014. Fluensulfone is a nematicide with a mode of action distinct from anticholinesterases and macrocyclic lactones. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 109: 44-57. ISSN: 24581383; DOI: 10.1016/j.pestbp.2014.01.004
- Martínez G.J.A., Díaz T.V., Allende M.R., García E.R.S., Carrillo, F.J.A. 2015. Primer reporte de *Meloidogyne enterolobii* parasitando tomate en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub Esp*. Núm. 11. P. 2165-2168. ISSN: 2007-9230; DOI: 10.29312/remexca.v0i11.786
- Miller T.W., Chaiet L., Cole D.J. 1979. Avermectin, new family or potent anthelmintic agents: isolation and chromatographic properties. *Antimicrob. Agents Chemother*, 15:368-371. ISSN: 1098-6596; DOI: 10.1128/AAC.15.3.368
- Morris, K.A., Langston, B.D., Davia, F.R., Noe, P.J., Dickson, W.D. y Timper, P. 2016. Efficacy of Various Application Methods of Fluensulfone for Managing Root-knot Nematodes in Vegetables. *Journal of Nematology* 48(2):65–71. 2016. ISSN: 0022-300X; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4930317/pdf/65.pdf>
- Oka Y. 2014. Nematicidal activity of fluensulfone against some migratory nematodes under laboratory conditions. *Pest Management Science* 10.1002/ps.3730. ISSN:1526-4998; DOI 10.1002/ps.3730
- Rich, J. R., Dunn, R. & Noling, J. (2004). Nematicides: Past and present uses. In: Chen, Z., X., Chen, S.Y. & Dickson, D.W. (Eds.) *Nematology: Advances and Perspectives, Vol 2. Nematode Management and Utilization*. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp.1041-1082. ISBN 10: 0851996469
- Ramirez, G.M.E. y T.Q. López. 1993. Métodos estadísticos no paramétricos. Universidad Autónoma Chapingo. 263 p. ISBN: 96889422214

- Reddy, P. P. 2008. *Diseases of horticultural crops: Nematode problems and their management* (379 pp). Jodhpur: Scientific Publishers. ISBN: 9788172335434
- Saad, A. S. A., Radwan, M. A., Mesbah, H. A., Ibrahim, H. S. and Khalil, M. S. 2017. Evaluation of some non-fumigant nematicides and the biocide avermectin for managing *Meloidogyne incognita* in tomatoes. *Pakistan Journal of Nematology* 35 (1): 85-92. ISSN: 2313-1942; <http://dx.doi.org/10.18681/pjn.v35.i01.p85-92>
- Sasser J.N., Freckman D.W. 1987. A world perspective on nematology: the role of the society, in: J. Veech, D. Dickson (Eds.), *Vistas on Nematology*, Society of Nematologists, Hyattsville, MD, pp. 7–14.
- SIAP, 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx/> (25 de enero de 2019).
- Villar L.E, Gómez R.O., Rojas M.R.I. 2016. Presence of *Meloidogyne enterolobii* on Jalapeño pepper (*Capsicum annum* L.) in Sinaloa México. *Helminthologia* 53 (2): 155 – 160. ISSN: 1336-9083; DOI: 10.1515/helmin-2016-0001

**CARACTERIZACIÓN DE LA CANAL Y LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA
CARNE DE EQUINOS CUARTO DE MILLA DE DESCARTE
CHARACTERIZATION OF THE CARCASS AND THE PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES
OF MEAT THE DISCARD QUARTER HORSES**

Felipe de Jesus Gamboa del Real¹, Beatriz Isabel Castro Pérez², Octavio Carrillo Muro³, Alfredo Estrada Angulo², German Contreras Pérez², Jairo Iván Aguilera Soto³.

¹Autor- Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UAS

felix_gam6@hotmail.com

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa

³Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas

RESUMEN

Con el fin de describir los efectos de la procedencia, el sexo, la edad de sacrificio (ES), la condición corporal (CC) y el peso de sacrificio (PS) sobre las propiedades fisicoquímicas de la carne, se utilizaron 240 equinos Cuarto de Milla de descarte. Los caballos fueron sacrificados en una planta Tipo Inspección Federal #E 42, en Fresnillo, Zacatecas durante el periodo de enero-mayo del 2017 y los datos se analizaron mediante un Modelo Lineal de Efectos Fijos. Los equinos de E.U.A. presentaron un Ph más ácido (5.74 vs 5.8), pero sin diferencia para las características de color; por su parte, el sexo tuvo efecto sobre la variable de color L* siendo mayor en las hembras (35.13 vs 34.51), de igual forma, la ES influyo sobre las variables de color L*, a* y el Ph siendo mayores para los más jóvenes (<3 años), mientras que a* tendió a disminuir a medida que la ES aumento. Por otro lado, la CC no tuvo ningún efecto sobre las características evaluadas, sin embargo, el PS también influyo sobre el pH siendo este mayor en los animales más pesados. Por lo que podríamos decir que la procedencia, el sexo, la ES y el PS afectan las propiedades fisicoquímicas de la carne, pero no así la CC. Con estos resultados y en conjunto de próximos estudios, se espera crear un marco de conocimiento para una adecuada reglamentación del mercado de la carne equina.

Palabras clave: Caracterización, Canal, Carne, Equino.

ABSTRACT

With aims to describe the effect of place of origin, sex, age at slaughter (AS), body condition (BC) and slaughter weight (SW) on the physicochemical properties of meat, 240 culled quarter horses were used. The horses were slaughtered in a Federal Inspection Type #E 42 plant, in Fresnillo, Zacatecas during the period of January-May 2017, the data were analyzed using a Fixed Effects Linear Model. The equines from the USA presentation in Ph more acidic

(5.74 vs 5.8), but without difference for the characteristics of color; On the other hand, sex had an effect on the color variable L *, being higher in females (35.13 vs 34.51), likewise, the AS influenced on the variables of color L *, a * and Ph, being higher for younger (<3 years), while a * tended to decrease as the AS increased. On the other hand, the BC had no effect on the evaluated characteristics, however, the SW also influenced the pH, being this higher in the heavier animals. Therefore, we could say that the origin, sex, AS and SW affect the physicochemical properties of the meat, but not the BC. Therefore, we could say that the procedure, the sex, the AS and the SW are the physical properties of the meat, but not the BC. It's expected that with these results and with future studies, that knowledge can be created to have adequate regulation of the equine meat market.

Keywords: Characterization, Carcass, Meat, Equine.

INTRODUCCIÓN

La relación entre los caballos y el ser humano ha existido desde hace muchos años (10,000 a.C.) hay evidencia de que antes de la domesticación del caballo ya se había utilizado como una fuente de alimento por el hombre siendo este el primer uso que se le diera (Hintz, 1995). Según datos de la FAOSTAT para el 2016 se produjeron alrededor de 740 mil ton de carne de caballo, sin embargo, esto sólo representa el 0.24 % de la producción total de carne en el mundo y se ha mantenido sin cambios significativos en los últimos 15 años.

El consumo estimado de carne de equino per cápita mundial es de 0.10 kg, siendo los principales consumidores los países europeos por tradición, aunque en algunos países como en el caso de México que destaca en la producción y exportación de esta carne, la aceptabilidad de la misma como fuente de alimento dentro del país para el consumidor es desconocida (Gill, 2005). El uso de carne de caballo en este momento no es muy popular para algunos países, pero podría desempeñar un papel importante, ya que presenta cualidades para ser considerada como una carne "dietética" (Lorenzo *et al.*, 2010), pues el consumo regular de la carne de caballo reduce significativamente los niveles séricos de colesterol total y de lipoproteínas de baja densidad, al mismo tiempo que incrementa los niveles de ácidos grasos poliinsaturados, mejorando la salud de las personas (Del Bó *et al.*, 2013).

Los consumidores de hoy en día conscientes sobre las repercusiones en la salud, demandan productos alimenticios de alta calidad. Demandan carnes con el nivel mínimo de grasa requerido para mantener la jugosidad y el sabor, así como una calidad consistente. En última instancia, el éxito de cualquier producto alimenticio está determinado por la aceptación del consumidor, que está en gran medida determinada por la percepción de la calidad, lo que se traduce en características físico-químicas, por lo tanto el objetivo del trabajo se basa en determinar los efectos de la procedencia, el sexo, la ES, la CC y el PS sobre las características de la canal y las propiedades fisicoquímicas de la carne de equino cuarto de milla de descarte.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el fin de describir los efectos de la procedencia, el sexo, la ES, la CC y el PS sobre las características de la canal se realizó un estudio con equinos que ingresaron a la planta de proceso de la Empacadora de Carnes de Fresnillo, S.A. de C.V., planta Tipo Inspección Federal # E 42, localizada en Av. Plateros # 706, en Fresnillo, Zacatecas, siguiendo la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014 (Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres) en conjunto del Laboratorio de Calidad de la Carne de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Se realizaron dos visitas semanales durante el periodo de enero a mayo del 2017 hasta completar una muestra de 30 caballos por categoría de acuerdo a su sexo (machos y hembras) y edad (<3, 3 a <8, 8 a 15 y >15 años) obteniendo un total de 240 equinos los cuales fueron elegidos al azar. En cada visita se obtuvo el peso de sacrificio individual al momento en que los caballos pasaron al corral de dieta mediante una báscula ganadera digital, la CC fue determinada cuando estaban en la línea de proceso momentos antes del sacrificio de los animales de acuerdo al sistema establecido por la Universidad de Kentucky manejando una escala donde 1 es un animal extremadamente delgado y 9 es un animal con abultamientos de grasa en todo el cuerpo (Wood, 1995), de igual manera se determinó el sexo (todos los machos eran castrados) y según la procedencia los equinos fueron agrupados como provenientes de México o de E.U.A Una vez sacrificados y separada la cabeza del cuerpo se definió la edad mediante el estudio de la dentición y fueron asignados al grupo correspondiente (<3, 3 a <8, 8 a 15 y >15 años). Al momento en que las canales estuvieron listas para pasar a la cámara fría se obtuvo el PCC el cual fue considerado como el peso total del cuerpo desangrado, desollado, eviscerado, sin cabeza ni extremidades, con la ayuda de una báscula digital aérea, además se obtuvieron las mediciones de AOC y EGD entre la 12^a y 13^a costilla del animal por medio de ultrasonografía inmediatamente al ingreso de las canales en la cámara fría, después de transcurridas 24h a una temperatura de 4 °C según protocolo de la planta Tipo Inspección Federal se pesaron nuevamente las canales antes de que pasaran al proceso de deshuesado y este fue considerado como el PCF. El RCC y RCF fue calculado como porcentaje del PS. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó un Modelo Lineal de Efectos Fijos del paquete de SAS (SAS System for Windows 9.0) considerando 5 factores: $Y_{ijklm} = \mu + P_i + S_j + E_k + CC_i + PS_m + \epsilon_{ijklm}$. Donde: Y_{ijklm} es la observación de las variables dependientes, μ es la media general, P_i es el efecto de la procedencia, S_j es el efecto del sexo, E_k es el efecto de la edad de sacrificio, CC_i es el efecto de la condición corporal, PS_m es el efecto del peso de sacrificio y ϵ_{ijklm} es el error aleatorio residual asociado a la observación. El análisis se corrió en 2 pasos: En el primer paso el modelo incluyó además de los 5 factores todas las interacciones de 2,3 y más factores, lo cual permitió eliminar todas aquellas que resultaran NO significativas. En el segundo paso se corrió el modelo con los factores fijos más aquellas interacciones que resultaron significativas (de primer y segundo orden).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los equinos procedentes de E.U.A. presentaron valores más altos (4.2%) de PCC y PCF que los caballos Mexicanos por lo que resulta lógico que también tuvieran los mayores RCC (59.61 vs 57.83) y RCF (57.95 vs 56.15) comparados con estos mismos (Cuadro 1), lo que podría deberse a los distintos sistemas de producción que se utilizan en cada país, sin embargo los rendimientos de ambos grupos se encuentran por debajo de los mencionados por Sarriés y Beriain (2005) quienes obtuvieron rendimientos en canal (RC) que van del 63 al 67% en caballos de la raza Burguete de 16 y 24 meses de edad respectivamente y con pesos de sacrificio (PS) que oscilan en los 400 kg. De igual forma Juárez *et al.* (2009) al comparar dos razas de caballos obtuvieron RC de 65 y 68%, en caballos Burguete e Hispano-Bretón sacrificados a los 18 meses de edad y con PS similares a los anteriores. Por su parte, Lanza *et al.* (2009) encontraron RC del 59% para las razas Sanfratellano y Haflinger a pesar de ser animales con PS y edades similares a las razas antes mencionadas, coincidiendo con los resultados de nuestro estudio. En este mismo sentido Franco *et al.* (2013) al comparar las razas de caballos Gallego de Monte y sus cruces con Hispano-Bretón alcanzaron rendimientos de solamente el 50 y 52% respectivamente, aunque estos animales fueron sacrificados a una edad más temprana y con un menor peso. Por su parte, Lorenzo *et al.* (2013b) obtuvieron RC de apenas el 47% en caballos Gallego de Monte de 15 meses de edad con un PS por debajo de 200 kg, todo esto probablemente atribuido a la raza de los diferentes grupos de animales aunque existen muchos más factores como lo son la condición corporal y el peso de sacrificio. No se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre sexos para ninguna de las variables evaluadas (Cuadro 2) coincidiendo con lo mencionado por Sarriés y Beriain (2005) y Lorenzo *et al.* (2013b) quienes mencionan que no existe efecto del sexo en equinos ni interacción con ningún otro factor para las características de la canal.

Por otra parte, se aprecia una mejora del PCC y PCF en los animales más viejos (>15 años) aunque no así del RCC y RCF (Cuadro 3), contrastando con Sarriés y Beriain (2005) quienes atribuyen a la edad la mejora en los rendimientos aunque estos utilizaron animales de 16 y 24 meses de edad siendo un periodo muy temprano de crecimiento con un nivel de madurez muy bajo, cabe mencionar que los rangos de edades utilizados en estos trabajos son muy distintos por lo que sería necesario evaluar rangos más cortos y periodos más prolongados y así poder determinar si existe un punto de aumento o declive según la edad de los animales para los rendimientos de la canal, pues en el caso del AOC si ocurre de esta forma, siendo significativamente mayor ($P < 0.01$) en los equinos más jóvenes y disminuye a partir de los 8 años de edad coincidiendo con lo mencionado por Schauer (2015) quien encontró que las características musculares en caballos aumentan con el aumento de la edad hasta alcanzar un pico.

Sin embargo, en este estudio son la condición corporal (CC) y el peso de sacrificio (PS) las variables que más afectan el comportamiento de las características de la canal, pues el PCC, PCF, RCC y RCF se ven incrementados a medida que los valores de CC y PS ascienden (Cuadro 4 y 5), es decir, aumentaron linealmente lo que resulta razonable pues el mismo comportamiento se muestra en especies más estudiadas como son los bovinos (Apple *et al.*, 1999 y Minchin *et al.*, 2009). La CC también afectó significativamente ($P < 0.0001$) el AOC y el EGD, posicionando a las condiciones 1 y 2 como las de menor área, seguidas de la 3,4,5,6 y 7 sin diferencia entre estas últimas. El mismo comportamiento se muestra para el EGD ya que la puntuación de la CC y las mediciones de grasa subcutánea están correlacionadas (Henneke *et al.*, 1983) lo que podría apreciarse más claramente si se hubieran obtenido equinos con CC de 8 y 9 pues mientras más tiempo permanezca un equino en categoría corporal alta más grasa depositará o viceversa (Gentry *et al.*, 2004), aunque los valores de EGD obtenidos para los caballos cuarto de milla en este estudio son muy bajos comparados con los obtenidos en otros trabajos similares (Schauer, 2015 y Martin-Gimenez *et al.*, 2016) probablemente atribuido a las diferencias en los sistemas de producción y raza de los animales.

De igual forma, el PS de los caballos resultó ser la variable que más influyó sobre las características de la canal, pues tuvo efecto significativo ($P < 0.05$) sobre todas ellas (Cuadro 5), ya que además de lo antes mencionado el PS también afectó significativamente ($P < 0.0001$) la MM de la canal presentando un comportamiento lineal, es decir, a medida que incremento el PS también aumentaron los kg de MM, sin embargo, cuando se analizó proporcionalmente se encontró que fueron los animales más livianos (151-250 kg) los que presentaron la mayor proporción de MM respecto de las demás categorías. Las MM de la canal obtenidas concuerdan con las descritas por Franco *et al.*, 2013 y Lorenzo *et al.*, 2013 las cuales oscilan entre el 2 y 3 % aunque no pueden ser comparables con las mencionadas en otros estudios (Sarriés y Beriain, 2005) que son superiores al 13 %. En relación con el AOC, esta fue mayor en los animales más pesados (451-550 kg) y menor en los más livianos (151-250 kg), sin embargo, para las otras dos categorías intermedias (251-350 kg y 351-450 kg) no presentó el mismo comportamiento, lo que podría explicarse por el hecho de que animales pesados no son necesariamente gordos y animales livianos tampoco son necesariamente flacos lo que afectaría directamente el AOC, pues las mediciones de ultrasonido para músculos equinos son confiables y repetibles (Abe *et al.*, 2012), pero en bovinos se ha comprobado que dependiendo del sistema de producción y estado nutricional tiende a cambiar la proporción en el AOC (Yokoo *et al.*, 2008),

Por su parte, el EGD se vio influenciado significativamente ($P < 0.028$) por el PS, donde los caballos que pesaban > 351 kg son los que presentan los valores más altos de EGD mientras que caballos con pesos por debajo de 350 kg no presentaron diferencias estadísticas para el EGD, sin embargo, las variaciones anatómicas en la deposición de grasa que además podrían confundir la estimación de la gordura podría ser distinta entre razas de caballos (Martin-Gimenez *et al.*, 2016) por lo que es necesario realizar más estudios ecográficos sobre distintas zonas anatómicas y así poder determinar las áreas con mayor tendencia a la deposición de grasa para cada raza de equinos (Quaresma *et al.*, 2013).

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados (\pm error estándar) para luminosidad, enrojecimiento, amarillez y pH de la carne de equinos cuarto de milla de acuerdo a su procedencia.

Procedencia					
Color	N	México	E.U.A.	EE	Pr>f
L*	720	34.78 ^a	34.87 ^a	0.32	0.80
a*	720	19.00 ^a	18.97 ^a	0.27	0.91
b*	720	6.18 ^a	6.46 ^a	0.19	0.15
pH	720	5.80 ^a	5.74 ^b	0.02	0.003

^{a,b} Literales distintas entre renglón indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

L*= Luminosidad, a*= Tendencia al rojo, b*= Tendencia al amarillo y pH= Potencial de hidrógeno.

Cuadro 2. Medias de mínimos cuadrados (\pm error estándar) para luminosidad, enrojecimiento, amarillez y pH de la carne de equinos cuarto de milla de acuerdo a su sexo.

Sexo					
Color	N	Machos	Hembras	EE	Pr>f
L*	720	34.51 ^b	35.13 ^a	0.24	0.01
a*	720	19.05 ^a	18.92 ^a	0.20	0.50
b*	720	6.22 ^a	6.41 ^a	0.14	0.19
pH	720	5.78 ^a	5.76 ^a	0.01	0.25

^{a,b} Literales distintas entre renglón indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

L*= Luminosidad, a*= Tendencia al rojo, b*= Tendencia al amarillo y pH= Potencial de hidrógeno.

Cuadro 3. Medias de mínimos cuadrados (\pm error estándar) para luminosidad, enrojecimiento, amarillez y pH de la carne de equinos cuarto de milla de acuerdo a su edad.

Color	N	Edad (años)				EE	Pr>f
		<3	3 a <8	8 a 15	>15		
L*	720	35.83 ^a	34.28 ^c	34.98 ^b	34.20 ^c	0.37	<.0001
a*	720	20.26 ^a	19.25 ^b	18.29 ^c	18.13 ^c	0.31	<.0001
b*	720	6.24 ^a	6.00 ^a	6.35 ^a	6.69 ^a	0.22	0.02
pH	720	5.69 ^b	5.77 ^a	5.80 ^a	5.83 ^a	0.02	<.0001

^{a,b,c} Literales distintas entre renglón indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

L*= Luminosidad, a*= Tendencia al rojo, b*= Tendencia al amarillo y pH= Potencial de hidrógeno.

Cuadro 4. Medias de mínimos cuadrados (\pm error estándar) para luminosidad, enrojecimiento, amarillez y pH de la carne de equinos cuarto de milla de acuerdo a su condición corporal.

Color	N	Condición corporal							EE	Pr>f
		1	2	3	4	5	6	7		
L*	720	35.33 ^a	35.74 ^a	35.02 ^a	34.72 ^a	34.45 ^a	33.89 ^a	34.63 ^a	0.57	0.03
a*	720	19.17 ^a	19.46 ^a	18.94 ^a	18.88 ^a	18.73 ^a	18.90 ^a	18.81 ^a	0.33	0.52
b*	720	6.80 ^a	6.59 ^a	6.31 ^a	6.29 ^a	6.13 ^a	5.94 ^a	6.17 ^a	0.32	0.19
pH	720	5.86 ^a	5.81 ^a	5.79 ^a	5.82 ^a	5.76 ^a	5.69 ^a	5.66 ^a	0.08	<.0001

^{a,b} Literales distintas entre renglón indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

L*= Luminosidad, a*= Tendencia al rojo, b*= Tendencia al amarillo y pH= Potencial de hidrógeno.

Cuadro 5. Medias de mínimos cuadrados (\pm error estándar) para luminosidad, enrojecimiento, amarillez y pH de la carne de equinos cuarto de milla de acuerdo al peso de sacrificio.

Color	N	Peso de sacrificio (kg)				EE	Pr>f
		151-250	251-350	351-450	451-550		
L*	720	35.48 ^a	34.39 ^a	34.69 ^a	34.74 ^a	0.46	0.10
a*	720	18.81 ^a	18.78 ^a	18.87 ^a	19.46 ^a	0.39	0.26
b*	720	6.54 ^a	6.22 ^a	6.30 ^a	6.22 ^a	0.22	0.66
pH	720	5.84 ^a	5.83 ^a	5.69 ^b	5.72 ^b	0.03	<.0001

^{a,b} Literales distintas entre renglón indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

L*= Luminosidad, a*= Tendencia al rojo, b*= Tendencia al amarillo y pH= Potencial de hidrógeno.

CONCLUSIONES

El sexo y la edad de los equinos influye sobre el color de la carne, presentándose un mayor valor para **L*** en las Hembras y en los caballos más jóvenes (<3 años); mientras que los valores de **a*** disminuyen conforme incrementa la edad de los animales.

De igual forma, el **pH** de la carne se ve influenciado por diferentes factores como la Procedencia, Edad y Peso de Sacrificio, siendo superior para los caballos de E.U.A. así como en los animales más jóvenes (<3 años) y en aquellos con mayor PS. Sin embargo, la condición corporal de los animales no mostró ningún efecto estadísticamente significativo para ninguna de las características evaluadas.

Con estos resultados y en conjunto de próximos estudios, se espera crear un marco de conocimiento que permita una adecuada reglamentación sobre el mercado de la carne equina, permitiendo la revalorización de este producto pues podría desempeñar un papel importante como una alternativa de carnes rojas.

LITERATURA CITADA

Abe T., Kearns C.F. y Rogers B. 2012. Reliability of ultrasound-measured muscle thickness of the longissimus dorsi muscle in Thoroughbreds. Wageningen Academic Publishers. 8 (3/4): 189-194. doi.org/10.3920/CEP12015

Apple J.K., Davis J.C., Stephenson J., Hankins J. E., Davis J.R. y Beaty S.L. 1999. Influence of body condition score on carcass characteristics and subprimal yield from cull beef cows. *Anim. Sci.* 77:2660-2669. doi.org/10.2527/1999.77102660x

Del Bó C., Simonetti P., Gardana C., Riso P., Lucchini G., y Ciappellano S. 2013. Horse meat consumption affects iron status, lipid profile and fatty acid composition of red blood cells in healthy volunteers. *Int J Food Sci Nutr.* 64(2): 147-54. doi.org/10.3109/09637486.2012.728198

FAOSTAT. 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QL> Accesado: Febrero, 2018. <http://www.fao.org/faostat/es/#home>

Franco D., Crecente S., Vázquez J. A., Gómez M. y Lorenzo J. M. 2013. Effect of cross breeding and amount of finishing diet on growth parameters, carcass and meat composition of foals slaughtered at 15 months of age. *Meat Science* 93: 547–556. https://www.academia.edu/21097610/Effect_of_cross_breeding_and_amount_of_finishing_diet_on_growth_parameters_carcass_and_meat_composition_of_foals_slaughtered_at_15months_of_age

Gentry L.R., Thompson D. L., Gentry G.T., Del Vecchio R.P., Davis K.A. y Del Vecchio P.M. 2004. The relationship between body condition score and ultrasonic fat measurements in mare of high versus low body condition. *Equine Vet. Sci.* 24: 198-203. doi.org/10.1016/j.jevs.2004.04.009

Gill C.O. 2005. Safety and storage stability of horse meat for human consumption. *Meat Science.* 71, 506–513. doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.030

Henneke D.R., Potter G.D., Kreider J.L. y Yeates B.F. 1983. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine vet.* 15(4): 371-372. doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x

Hintz H.F. 1995. Thoughts about the history of horses. *Journal of Equine Veterinary Science.* 15(8): 336-339. [doi.org/10.1016/S0737-0806\(07\)80536-3](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(07)80536-3)

Juárez M., Polvillo O., Gómez M.D., Alcalde M.J., Romero F. y Valera M. 2009. Breed effect on carcass and meat quality of foals slaughtered at 24 months of age. *Meat Science* 83: 224–228. DOI:[10.1016/j.meatsci.2009.04.022](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.04.022)

Lanza M., Landi C., Scerra M., Galofaro V. y Pennisi P. 2009. Meat quality and intramuscular fatty acid composition of Sanfratellano and Haflinger foals. *Meat Sci.* 81: 142–147. doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.07.008

Lorenzo J.M., Fuciños C., Purriños L., y Franco D. 2010. Intramuscular fatty acid composition of “Galician Mountain” foals breed. Effect of sex, slaughtered age and livestock production system. *Meat Science.* 86, 825–831. doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.07.004

Lorenzo J.M., Pateiro M. y Franco D. 2013a Influence of muscle type on physicochemical and sensory properties of foal meat. *Meat Science.* 94, 77-83. doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.001

Lorenzo J.M., Sarriés M.V. y Franco D. 2013b. Sex effect on meat quality and carcass traits of foals slaughtered at 15 months of age. *The Animal Consortium* 7:7, pp 1199–1207. doi.org/10.1017/S1751731113000189

Martin-Gimenez T., Aguirre-Pascasio C.N. y de Blas I. 2016. Ultrasonographic assessment of regional fat distribution and its relationship with body condition in an easy keeper horse breed. *Equine Vet. Sci.* 39: 69-75. doi.org/10.1016/j.jevs.2016.01.010

Minchin W., Buckley F., Kenny D.A., Keane M.G., Shalloo L. y O’Donovan M. 2009. Prediction of cull cow carcass characteristics from live weight and body condition score measured pre slaughter. *Irish Journal of Agricultural and Food Research.* 48: 75-86. <http://www.jstor.org/stable/25594965>. <http://www.jstor.org/page/info/about/policies/terms.jsp>.

Quaresma M., Payan-Carreira R. y Silva S.R. 2013. Relationship between ultrasound measurements of body fat reserves and body condition score in female donkeys. *The Veterinary Journal.* xxx: xxx-xxx. doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.12.031

Sarriés M.V. y Beriain M.J. 2005. Carcass characteristics and meat quality of male and female foals. *Meat Sci.* 70: 141–152. doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.12.006

Schauer A.L. 2015. Effect of age, breed and sex on longissimus dorsi muscle area subcutaneous fat depth in horses. University of Connecticut, Department of Animal Science.

Honors Scholar Theses. 444.
https://opencommons.uconn.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1410&context=srhonors_theses.

Wood C.H. 1995. Condition scoring for your horse. University of Kentucky, Agriculture and Natural Resources Publications. Cooperative Extension Service. Paper 10.
https://uknowledge.uky.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1002&context=anr_reports.

Yokoo M.J., Albuquerque L.G., Lóbo R.B., Bezerra L.A.F., Araujo F.R.C., Silva J.A.V. y Sainz R.D. 2008. Genetic and environmental factor affecting ultrasound measures of longissimus muscle area and backfat thickness in Nelore cattle. *Livestock Science*. 117: 147-154.
doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.006.

EFFECTO DE UNA MEZCLA ESTANDARIZADA DE ADITIVOS NATURALES SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA DE OVINOS EN FINALIZACIÓN

Víctor Hugo Núñez Benítez¹, Beatriz Isabel Castro Pérez¹, Alejandro Plascencia Jorquere², Alfredo Estrada Angulo², María Alejandra López Soto², Carlos Raúl Rivera Méndez³.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

¹ Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia, UAS. mvzvictor_07@hotmail.com; ² Instituto De Investigaciones En Ciencias Veterinarias, UABC; ³ Investigación Y Mejora Pecuaria; SUKARNE.

RESUMEN

28 corderos Pelibuey × Katahdin (35±2.3 Kg) fueron utilizados para evaluar los efectos de una fuente estandarizada que contenía una combinación de probióticos, β-glucanos y gliconutrientes (GLY) sobre el comportamiento productivo de ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización. La fuente de la mezcla de aditivos naturales fue Glycozyme (Maxcell Global Co. LTD, Seoul Korea). Los tratamientos fueron testigo y Gly (0 y 1 g de compuesto estandarizado por cada 10 kg de peso vivo respectivamente). El periodo experimental fue de 77 días. Los pesajes por periodo fueron los días 0, 28, 56 y 77. Los efectos de los tratamientos fueron analizados bajo un diseño de bloques completos al azar. El peso vivo incremento significativamente (P=0.03) durante el periodo de 1-77 días y sacrificio (P=0.02). Se observó una tendencia a incrementar (3.49%, P=0.06) el peso de canal caliente y una diferencia significativa sobre el peso de canal fría (3.85%, P=0.03) en los ovinos que recibieron la dieta adicionada con Glycozyme. Se observó un incremento (P<0.05) sobre el consumo de materia seca en los periodos 2 (14%), 3 (10%) y ciclo completo (10%), sin presentar cambios (P>0.05) sobre conversión alimenticia. Se concluye que la inclusión de Glycozyme mejora la respuesta productiva de ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización, lo cual puede deberse a que los ovinos que recibieron la dieta con Glycozyme tuvieron una mayor respuesta y estabilidad celular a nivel gastrointestinal.

Palabras clave: Ovinos de pelo, Dietas de finalización, Probióticos, Gliconutrientes.

ABSTRACT

28 Pelibuey x Katahdin lambs (35 ± 2.3 Kg) were used to evaluate the effects of a standardized source containing a combination of probiotics, β-glucans and glyconutrients (GLY) on the growth performance of hair lambs fed finishing diets. The source of the mixture of natural additives was Glycozyme (Maxcell Global Co. LTD, Seoul Korea). The treatments were control and Gly (0 and 1 g of standardized compound by 10 kg of live weight respectively). The experimental period was 77 days. Weighings per period were the days 0, 28, 56 and 77. The effects of the treatments were analyzed under a randomized complete block design. Live weight increased significantly (P = 0.03) during the period of 1-77 days and sacrifice (P = 0.02). There was a tendency to increase (3.49%, P = 0.06) the hot carcass

weight and a significant difference on cold carcass weight (3.85%, $P = 0.03$) in the lambs that received the diet added with Glycozyme. An increase was observed ($P < 0.05$) on the consumption of dry matter in periods 2 (14%), 3 (10%) and accumulated (10%), without presenting changes ($P > 0.05$) on feed conversion. It is concluded that the inclusion of Glycozyme improves the growth performance of hair lambs fed finishing diets, this may be due to that the lambs that received the diet with Glycozyme had a greater response and cellular stability at the gastrointestinal level.

Key words: Hair lambs, finishing diets, Probiotics, Glyconutrients.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la ovinocultura se ha convertido en una actividad pecuaria de gran importancia debido a la necesidad de satisfacer la demanda de carne para consumo humano. En México, se ha observado un incremento constante en la producción de carne de ovino, sin embargo, la producción actual no satisface la necesidad existentes a nivel nacional, por lo que se tiene que importar alrededor de 10 mil toneladas de carne al año (FAOSTAT, 2019; SIAP, 2019). Uno de los factores que contribuyen al déficit de carne de ovino a nivel nacional es que la mayoría de los ovinos se producen en sistemas extensivos, en los cuales los ovinos presentan ganancias de peso bajas (120 a 147 g/d) y ciclos de engorda mayores comparados con los sistemas de producción intensiva (González *et al.*, 2013). En la actualidad, en los sistemas de producción intensivos se están empleando razas más especializadas en la producción de carne, por otra parte, el uso de dietas integrales se ha convertido en una opción con la cual se busca aprovechar al máximo las diferentes etapas de crecimiento de los corderos y reducir los ciclos de engorda, sin embargo, los costos de producción se incrementan (Sepúlveda *et al.*, 2011; Partida *et al.*, 2013). Por lo tanto, la implementación de tecnologías alimenticias en los sistemas de producción puede jugar un papel importante en los procesos de producción, ya que de los costos de producción la alimentación representa alrededor del 60% de ellos. El uso de aditivos en la alimentación animal se ha empleado con varios propósitos dentro de los cuales están: mejorar el comportamiento productivo, mejorar las características del producto final o bien mejorar el bienestar y la salud de los animales, sin embargo, en la actualidad existe una preocupación pública y científica sobre los efectos adversos ocasionados por la utilización de aditivos, por otra parte, las estrictas regulaciones en su utilización han estimulado la búsqueda de aditivos alternativos catalogados como “seguros o naturales” con los cuales se puedan encontrar resultados similares a los aditivos convencionales, como son el uso de extractos vegetales, probióticos y gliconutrientes (Jouany y Morgav, 2007). Los Probióticos son microorganismos vivos que tienen la habilidad de modular el balance y las actividades gastrointestinales, por ello son considerados benéficos para el organismo de los animales (Heyman y Ménard, 2002). Estos son definidos como aditivos alimenticios constituidos por microorganismos vivos, que al consumirse en cantidades adecuadas producen efectos positivos en la fisiología y salud de los hospedadores. En terneros se ha observado que la administración de probióticos puede reducir la incidencia de diarreas, mejorar la ganancia de peso y conversión alimenticia (Timmerman *et al.*, 2005). López *et al.*, (2015), mencionan que el adicionar 20 y 30 g/a/d de probióticos en corderos post-destete incrementa la ganancia diaria de peso (12%), sin afectar el consumo de alimento. En contraste, Hernández *et al.*, (2015), reportan

que la adición de probióticos en ovinos alimentados con dietas de finalización no afecta el consumo de materia seca, ganancia diaria de peso o conversión alimenticia ($P < 0.05$). Aunque los resultados de su implementación demuestran inconsistencia, esto es atribuido generalmente a sus distintos métodos de empleo, dosificación, contenido bacteriano, así como contenido de la dieta (Sales, 2015). Por otra parte, el uso de algunos sacáridos complejos definidos como gliconutrientes está tomando popularidad en los suplementos dietéticos para los seres humanos y para algunas especies no rumiantes. La enorme diversidad estructural que es posible en estos sacáridos, permite que estas sustancias se unan en la pared celular a proteínas y lípidos para formar glicoconjugados, a pesar de que se encuentren en cantidades muy pequeñas estas sustancias dirigen la interacción de las células con otras células y con su entorno, también ayudan a reconocer bacterias, virus y células del organismo con problemas estructurales para que sean regenerados o eliminados, sin embargo, aunque los gliconutrientes pueden ser sintetizados en gran parte por el metabolismo celular, los procesos enzimáticos y el intercambio de energía necesarios para proporcionar estos monosacáridos esenciales pueden verse afectados por el estrés, diversas enfermedades y ciertos estados de deficiencia, por lo cual la adición de gliconutrientes a la dieta es esencial, ya que reduce el gasto de energía, el número de pasos para su síntesis y las reacciones enzimáticas necesarias para hacerlos disponibles para el organismo (Sierpina y Murray, 2006). López *et al.*, (2017) utilizaron una mezcla de probióticos y gliconutrientes en terneros neonatos, en los cuales observaron efectos sobre ganancia diaria de peso (59%, $P < 0.05$), consumo de alimento (44%, $P < 0.05$) y mortalidad (43%, $P < 0.05$). En teoría, los efectos descritos para probióticos y gliconutrientes puede verse reflejada en ovinos alimentados con dietas de finalización, sin embargo, la información existente sobre su implementación es limitada.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la última década la ovinocultura ha sufrido grandes transformaciones con el objetivo de mejorar la producción de carne y poder cubrir la demanda nacional, sin embargo, a pesar de que se ha incrementado su producción, México debe importar alrededor de 10 % de la carne que produce. La implementación de tecnologías alimenticias (aditivos, promotores del crecimiento, vitaminas, etc.) ha sido fundamental para lograr la producción actual, por otra parte, la preocupación pública sobre su implementación ha estimulado la búsqueda de alternativas catalogadas como “Naturales o Seguras” con las cuales se puedan generar respuestas similares a las obtenidas con los aditivos convencionales. La implementación de probióticos en la alimentación de rumiantes ha generado resultados positivos sobre los indicadores de producción. De igual modo, el uso de algunos sacáridos complejos definidos como gliconutrientes ha tomado popularidad como suplementos dietéticos para los seres humanos y para algunas especies no rumiantes. El incremento en su uso obedece a ciertas propiedades atribuidas a los gliconutrientes entre las que destacan, la de actuar como señalizadores celulares para favorecer respuesta inmunológica, como mediadores de respuesta inflamatoria y del estrés. Como resultado del modo de acción descrito para probióticos y gliconutrientes, la combinación de ambos pudiera mostrar efectos sinérgicos cuando se utilicen como aditivo en la alimentación de rumiantes. Sin embargo, hasta el

momento no existe información disponible sobre el efecto de la combinación de estos compuestos en la respuesta productiva de ovinos en finalización

HIPÓTESIS

La suplementación con una fuente estandarizada de probióticos, β -glucanos y gliconutrientes (Glycozyme) mejorará la respuesta productiva en ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de Glycozyme sobre respuesta productiva, características de la canal, cortes primarios, masa visceral, composición tisular y calidad de carne.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de la suplementación de probióticos, β -glucanos y gliconutrientes sobre respuesta productiva (peso vivo, ganancia diaria de peso, consumo de materia seca y conversión alimenticia), canal caliente y canal fría.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Universidad Autónoma de Sinaloa, en la Unidad Experimental de Ovinos de Engorda, localizado en Culiacán Rosales, Sinaloa, México (24 ° 46 '13 "N y 107 ° 21' 14" O) La ciudad de Culiacán está a 55 m sobre el nivel del mar, y tiene un clima tropical. Todos los procedimientos de gestión de los animales se llevarán a cabo dentro de las directrices técnicas aprobadas localmente para uso y cuidado de los animales.

Animales, tratamientos y análisis de muestras.

Se utilizarán 28 corderos machos raza Pelibuey \times Katahdin (~35 kg PV) para evaluar los efectos de inclusión de una fuente estandarizada de aditivos naturales sobre el comportamiento productivo, energética de la dieta, masa visceral, cortes primarios, composición tisular y calidad de carne en ovinos alimentados con dietas de finalización. Dos semanas antes del inicio del experimento los corderos se trataron contra parásitos (Tasasel 5%, Fort Dodge, Sanidad Animal, México), se les inyectó 1×10^6 UI de vitamina A (Synt-ADE, Salud Fort Dodge Animal) y se adaptaron a la dieta basal. Al inicio del experimento, los corderos se pesaron antes de alimentarlos por la mañana (balanza electrónica; TORREY TIL / S: 107 2.691, TOR REY Electronics Inc, Houston TX, EE.UU.) y de acuerdo a su peso se agruparon en uno de catorce corrales bajo un diseño de bloques completos al azar (7 corrales por tratamiento y 2 animales por corral). Los corrales tienen una superficie de 6 m² y están totalmente sombreados, bebederos automáticos y 1 m lineal de comedero. El periodo experimental fue de 77 días, los ovinos se pesaron los días 1, 28, 56 y 77, antes de servir el alimento por la mañana. Todos los animales fueron dietados 18 horas previas al sacrificio (restricción de alimento, agua a libre acceso) y posteriormente se sacrificaron. La fuente de la mezcla de aditivos naturales fue Glycozyme (Maxcell Global Co. LTD, Seoul Korea). Los tratamientos fueron testigo y Gly (0 y 1 g de compuesto estandarizado por cada 10 kg de peso vivo respectivamente). La dosis de GlyCoZime se pesó manualmente usando una balanza de precisión (Ohaus, AS612 mod, Pine Brook, NJ, EE.UU.), y se mezcló

previamente durante 5 minutos con ingredientes menores (urea y sales minerales) antes de su incorporación a las dietas experimentales. El producto final se mezcló con el resto de los ingredientes en una mezclador de paletas de 2.5 m³ de capacidad (modelo 30.910-7, Coyoacán, México). Para evitar la contaminación entre los tratamientos, el mezclador se limpió a fondo entre cada tratamiento. Los tratamientos se asignaron al azar a los corrales dentro de los bloques. Los ovinos tuvieron acceso *ad libitum* a los tratamientos y el consumo de alimento se ajustó para permitir rechazos mínimos (<5%) en el comedero. Las cantidades de alimento ofrecido y de alimento rechazado se pesaron diariamente. Se le proporcionó alimentación fresca dos veces al día (09:00 y 17:00 horas). Los comederos se evaluaron visualmente entre 08:40 y 08:50 horas cada mañana, los rechazos se retiraron y se pesaron para determinar el consumo de alimento. Los ajustes a aumentar o disminuir el alimento ofrecido, se proporcionaron en la alimentación de la tarde. Diariamente se tomaron muestras de alimento para el análisis de: Materia Seca (secado en horno a 105 ° C hasta que no se produzca pérdida de peso; método de 930.15; AOAC, 2000); proteína cruda (N x 6.25, método 984.13; AOAC, 2000); cenizas (método 942.05; AOAC, 2000); FDN [Van Soest et al., 1991, corregido para FDN por cenizas, la incorporación estable al calor α -amilasa (Ankom Technology, Macedon, NY) a 1 ml por cada 100 ml de solución de FDN (Midland Scientific, Omaha, NE)]; extracto etéreo (método 920.39; AOAC, 2000); almidón (Zinn, 1990). El consumo de materia seca (CMS) y energía de la dieta observados se estimó en base al peso vivo inicial y final ajustados. Para convertir a una base peso vivo ajustado (PVA) se asume que PVA representa el 96% del peso vivo completo (Cannas et al., 2004). La ganancia diaria de peso (GDP) se calculó restando el PVI del PVF y dividiendo el resultado sobre los días de prueba. La eficiencia alimenticia se calcula dividiendo ganancia diaria de peso (GDP) sobre el CMS diario. La estimación de CMS esperado se realiza en base a lo observado entre GDP y PVA conforme a la siguiente ecuación: CMS esperado, kg/día = (EM/ENm) + (EG/ENg), donde EM (energía necesaria para el mantenimiento, Mcal/día) = 0.056 x PVA^{0.75} (NRC, 1985), EG (ganancia de energía, Mcal/d) = 0.276 x PVA^{0.75} x GDP (NRC 1985), ENm y ENg son 2.16 y 1.50 Mcal / kg, respectivamente (deriva de los valores tabulares basados en la composición de ingredientes de la dieta experimental (NRC, 1985). El coeficiente 0.276 se estimó suponiendo un peso adulto de 113 kg para corderos Pelibuey x Katahdin. ENm de la dieta se estimó por medio de la fórmula cuadrática descrita por Estrada-Angulo et al. (2013).

Análisis estadístico.

Los datos de rendimiento (ganancia, eficiencia alimenticia, y la energía de la dieta) y la canal se analizaron con un diseño de bloques completos al azar. La unidad experimental fue el corral, el efecto fijo fue el tratamiento y el corral como el componente aleatorio. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + t_j + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} es la variable de respuesta.

μ es el promedio general.

β_i es el efecto del bloque.

t_j es el efecto de tratamiento.

ϵ_{ij} es el error experimental.

Las diferencias se consideraron significativas cuando el valor de $p \leq 0.05$, y las tendencias fueron identificadas cuando el valor de p es > 0.05 y ≤ 0.10 . Se realizó una separación de medias con la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de la adición de Glycozyme sobre rendimiento productivo en ovinos de pelo se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Efecto de los tratamientos sobre la respuesta productiva de ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización.

Variable/tratamiento	Glycozyme	Testigo	EEM	Valor p
Pesos, kg.				
Peso día 1	35.0	35.2	0.7	0.33
Peso día 28	40.7	40.0	0.9	0.28
Peso día 56	47.8	46.4	0.9	0.06
Peso día 77	51.8a	49.9b	0.9	0.03
Peso sacrificio	48.9a	47.0b	0.8	0.02
PCC	30.0	29.0	0.6	0.06
PCF	29.9a	28.8b	0.6	0.03
Consumo de materia seca, g/cbz/d				
Día 1-28	1003	952	25	0.11
Día 29-56	1116a	977b	30	0.0002
Día 57-77	1227a	1111b	34	0.004
Día 1-77	1105a	1004b	27	0.0007
Ganancia diaria de peso, g				
día 1-28	206	172	12	0.14
día 29-56	252	227	12	0.32
día 57-77	191	169	12	0.35
día 1-77	218a	191b	6	0.02
Conversión alimenticia, c:g				
día 1-28	5.05	6.84	0.52	0.05
día 29-56	4.62	5.12	0.42	0.57
día 57-77	7.21	7.44	0.60	0.83
día 1-77	5.17	5.27	0.15	0.69
Consumo de agua, lts/cbz/d				
día 1-28	2.65a	2.30b	0.09	0.005
día 29-56	3.50a	3.01b	0.12	0.0002
día 57-77	4.65	4.60	0.19	0.81
Día 1-77	3.51a	3.18b	0.12	0.005

Las literales diferentes en los tratamientos indican diferencia estadística (P<0.05).

La adición de Glycozyme muestra resultados positivos sobre el peso vivo, el cual incremento en 3.75% y 4.06% en los pesajes a los días 77 y sacrificio (P=0.03 y P=0.02). Se observó una tendencia a incrementar (3.49%, P=0.06) el peso de canal caliente y una diferencia significativa sobre el peso de canal fría (3.85%, P=0.03) en los ovinos que recibieron la dieta adicionada con Glycozyme. Los resultados observados en los pesos de los ovinos en los diferentes periodos hacen sentido con lo observado en la ganancia diaria de peso, la cual solo es mayor (14%) en los animales que recibieron la dieta con Glycozyme cuando se evaluó de inicio a fin (día 1 a 77, P=0.02). Los resultados sobre la ganancia diaria de peso son similares a los obtenidos por Hernández *et al.* (2015), quienes reportan ganancias de 194 g por día en ovinos en confinamiento suplementados con una *S. cerevisiae*. Al respecto, López *et al.* (2017) en un estudio realizado con terneros observó un incremento sobre la ganancia diaria de peso (59%) cuando se adicionaron las mismas dosis de Glycozyme que en el presente experimento. Por otra parte, se observó un incremento en el consumo de alimento en los periodos 2 (día 29-56), 3 (días 57-77) y acumulado (día 1-77) de 14%, 10% y 10% respectivamente (P<0.05), sin presentar cambios en la conversión alimenticia en los mismos periodos (P>0.05). Los resultados obtenidos en el presente experimento difieren de los obtenidos por Hernández *et al.* (2015), quienes reportan consumos de 1.300 kg y conversiones alimenticia de 7.20 kg por kg de peso vivo incrementado en ovinos en confinamiento. López *et al.* (2017) reportan que la inclusión con 5 g/d Glycozyme mejora el consumo de materia seca (44%) en terneros neonatos. De igual forma, se observó un incremento en el consumo de agua en los periodos 1 (día 1-28), 2 (día 29-56) y acumulado (1-77), estos incrementos sobre el consumo de agua están mediados en parte por el incremento sobre el consumo de materia seca.

Los resultados del presente experimento sugieren que la suplementación con probióticos enriquecidos con gliconutrientes mejora la respuesta productiva de corderos alimentados con dietas altas en grano, lo que puede deberse a que los corderos que recibieron la dieta con Glycozyme tuvieron una mayor respuesta y estabilidad celular a nivel gastrointestinal.

CONCLUSIONES

Se concluye que la inclusión de Glycozyme en la alimentación de ovinos de pelo ayuda a mejorar respuesta productiva de ovinos de pelo alimentados con dietas de finalización.

Es importante considerar que Glycozyme contiene adicionalmente β -glucanos, los cuales también funcionan como activadores de la respuesta inmune, y no se considera la magnitud de papel en este estudio.

Es necesario continuar con la investigación que ayude a explicar el papel de los gliconutrientes en la salud y productividad del ganado.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 2000. Official methods of analysis. 17th edn. Association Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD, USA. Sitio web:
[https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1687699](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1687699)
- Cannas A., Tedeschi L. O., Fox D. G., Pell A. N., Van Soest P. J. 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. *J Anim Sci.* 82(1):149-69. [DOI.org/10.2527/2004.821149x](https://doi.org/10.2527/2004.821149x)
- Estrada-Angulo, A., Y. S. Valdés, O. Carrillo-Muro, B. I. Castro-Pérez, A. Barreras, M. A. López-Soto, A. Plascencia, H. Dávila-Ramos, F. G. Ríos, and R. A. Zinn. 2013. Effects of feeding different levels of chromium-enriched live yeast in hairy lambs fed a corn-based diet: Effects on growth performance, dietary energetics, carcass traits and visceral organ mass. *Anim. Prod. Sci.* 53: 308-315. [DOI.org/10.1071/AN12192](https://doi.org/10.1071/AN12192)
- FAOSTAT. 2019. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. Cultivo y productos de la ganadería. Sitio web:
<http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP/visualize>
- González G. R., Blardony R. K., Ramos J. A., Ramírez H. B., Sosa R., Gaona P. M. 2013. Rentabilidad de la producción de carne de ovinos Katahdin x Pelibuey con tres tipos de alimentación. *Avances en investigación agropecuaria.* 17(1):135-148. ISSN: 0188789-0. Sitio web: <http://www.uco.mx/revista/portal/pdf/2013/enero/7.pdf>
- Hernández G. P. A., Lara B. A., Mendoza M. G. D., Bárcena G. J. R., Plata P. F. X., López O. R., Martínez G. J. A. 2015. Effects of feeding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), organic selenium and chromium mixed on growth performance and carcass traits of hair lambs. *Journal of Integrative Agriculture,* 14(3): 575–582. [DOI 10.1016/S2095-3119\(14\)60833-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60833-9)
- Heyman M., Ménard S. 2002. Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. *Cell. Mol. Life Sci.* 59(7):001–15. [DOI: 10.1007/s00018-002-8494-7](https://doi.org/10.1007/s00018-002-8494-7)
- Jouany J. P., Morgavi D. P. 2007. Use of “natural” products as alternatives to antibiotic feed additive in ruminant production. *Animal* 1(10): 1443-1446. [Doi: 10.1017/S1751731107000742.](https://doi.org/10.1017/S1751731107000742)
- López V. G., Zapata R. O., Núñez G. L., Núñez B. V. H., Landeros L. H., López S. A., Barreras A., González V., Estrada A. A., Zinn R., Plascencia A. 2017. Effective use of probiotic-glyconutrient combination as an adjuvant to antibiotic therapy for diarrhea in rearing dairy calves. *Turk J Vet Anim Sci.* 41: 578-581. [Doi:10.3906/vet-1701-54.](https://doi.org/10.3906/vet-1701-54)

- López Y., Arece J., Ojeda F., Molina M. 2015. Efecto de la inclusión en la dieta del probiótico Sorbifauna sobre el crecimiento posdestete de ovinos estabulados. *Pastos y Forrajes*. 88 (2) 202-206. ISSN 2078-8452. Sitio web: <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v38n2/pyf08215.pdf>
- NRC.1985. Nutrient requirement of sheep. 6th Rev. edn. National Academy Press. Washington, DC, USA. Sitio web: <https://cpb-us-e1.wpmucdn.com/blogs.cornell.edu/dist/f/6685/files/2015/09/NRC-Sheep-1985-1m52js8.pdf>
- Partida P., Braña D. B., Ríos R. F. G., Buendía G. R. 2013. Producción de carne ovina. ISBN: 978-607-37-0036-8. <http://www.anetif.org/files/pages/0000000034/20-produccion-de-carne-ovina.pdf>
- Sales J. 2011. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters, nutrient digestibility and growth in sheep: A meta-analysis. *Small Ruminant Research* 100 (1) 19–29. DOI: [10.1016/j.smallrumres.2011.05.012](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.05.012)
- Sepúlveda W. S., Maza M. T., Pardos L. 2011. Aspects of quality related to the consumption and production of lamb meat. Consumers versus producers. *Meat Science* 87(4): 366–372. DOI: [10.1016/j.meatsci.2010.11.013](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.11.013)
- SIAP. 2019. Servicio de información agroalimentaria. Producción ganadera. Avances de la producción pecuaria por producto. Sitio web: http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp
- Sierpina V. S., Murray R. K. 2006. Glyconutrients: The state of the science and the impact of glycomics. *Explore (NY)*. 2(6):488–494. DOI: [10.1016/j.explore.2006.08.016](https://doi.org/10.1016/j.explore.2006.08.016)
- Timmerman H. M., Mulder L., Everts H., van Espen D.C., van der Wal E., Klaassen G., Rouwers S. M. G., Hartemink R., Rombouts F. M., Beynen A. C. 2005. Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. *Journal of Dairy Science* 88: 2154–2165. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72891-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72891-5)
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Zinn, R.A. 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. *Journal Animal Science*. 68:776-781. DOI: [org/10.2527/1990.683776x](https://doi.org/10.2527/1990.683776x)

CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS, ANTOCIANINAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE MAÍCES (*Zea mays*) NATIVOS DE SINALOA SOMETIDOS A ESTRÉS HÍDRICO.

Villa Bojorquez Jaime , ¹Sanchez Peña Pedro, ²Basilio Heredia José, ²Osuna Enciso Tomás, ¹Parra Terraza Saúl

¹ Doctorados en ciencias agropecuarias (Facultad de agronomía-UAS) ² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo.

Jaimevilla03@gmail.com

RESUMEN

El maíz pigmentado es una planta nativa de América, dentro de las cuales México tiene una diversidad muy grande, la principal importancia en maíces nativos radica en que son variedades únicas y tienen pigmentos que le otorgan características diferenciadas en su tipo, entre los que destacan las antocianinas (cianin-3-glucosa C3G que es su principal colorante) y ácidos fenólicos, que debido a su alto contenido actúan como un poderoso antioxidante natural y anticancerígeno, la composición de antocianinas y ácidos fenólicos dentro de la planta se encuentra de forma natural, pero su concentración es afectada principalmente por condiciones bióticas y abióticas, estos cambios generan fisiológicamente en la planta respuestas de estrés por lo cual pueden incrementar este tipo de compuestos, unos de estos factores es un aporte hídrico por debajo de sus requerimientos normales por lo que se tiene como objetivo conocer y medir la respuesta de compuestos antioxidantes y fenólicos en 6 variedades con alto contenido de antocianinas y ácidos fenólicos de maíces nativos de México al ser sometidos a estrés hídrico.

INTRODUCCIÓN

México tiene la mayor diversidad de recursos genéticos de maíz en el mundo, con alrededor de 59 variedades locales diferentes (Sánchez et al., 2000). Muchos de estos materiales se están perdiendo por el desuso, malas condiciones agroclimáticas, abandono de tierras donde se cultiva, introducción de maíces mejorados o por el autoconsumo.

Hoy en día, los cereales han recibido una mayor atención de una perspectiva nutracéutica debido a sus posibles beneficios para la salud. Contenidos fitoquímicos tales como fenólicos, antocianinas, entre otros han sido reportados previamente en varios genotipos (Adom y Liu, 2002; De la Parra et al., 2007; López-Martínez et al., 2009). Los maíces nativos son fuente importante de diversidad genética que puede ser introducida en los programas de mejoramiento o ser explotados directamente para consumo o usos industriales (Fernández-Suárez et al., 2013). Hay varios tipos de genotipos pigmentados, los más comunes siendo el azul y el rojo (Vielle-Calzada y Padilla, 2009).

En consecuencia, es importante caracterizar los recursos genéticos de maíz que México posee, identificar nuevos y mejores materiales, no solamente por sus propiedades agronómicas, sino también por su contenido de aceite y tipo de almidón. Además, el maíz contiene componentes de interés como los compuestos fenólicos, incluidas las antocianinas presentes en los maíces de color. Todos estos compuestos presentan capacidad antioxidante, aunque en diferente nivel dependiendo de la naturaleza química del compuesto en cuestión. (Kuhnen *et al.*, 2011; Zilić *et al.*, 2012; Kang *et al.*, 2012).

Planteamiento del problema

Los antocianinas y compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios vegetales que son expresados naturalmente por las plantas, los cuales varían en estructuras y funciones. Estos han sido encontrados en cereales como el maíz y se han estudiado por poseer actividad antioxidante, por lo que su extracción y estudio se ha vuelto un tema de interés científico, comercial y de salud pública. Actualmente, se ha investigado la composición y cantidad de estos compuestos en diferentes maíces nativos ya que poseen una cantidad considerable de ácidos fenólicos y antocianinas, cuyo aprovechamiento radica en la capacidad nutracéutica que aporta. Es importante evaluar si la cantidad de estos compuestos tienen una variación al modificar el ambiente de crecimiento, por lo cual las plantas de maíz serán sometidas a estrés por déficit de agua y será evaluada la cantidad de antocianinas y compuestos fenólicos generadas bajo esta modificación de aporte de agua en diferentes variedades de maíz nativo.

OBJETIVOS

Objetivo general

-Cuantificar antocianinas y compuestos fenólicos que están presentes en las variedades de maíz nativo de Sinaloa, así como evaluar la capacidad antioxidante de estos en plantas sometidas a estrés hídrico.

Objetivos específicos

-Cuantificación de antocianinas y compuestos fenólicos en grano de la planta de maíz presentes en 6 variedades endémica del estado de Sinaloa.

-Medir la respuesta de las antocianinas y compuestos fenólicos de la planta de maíz sometida a estrés hídrico.

-Evaluación de la capacidad antioxidante de las antocianinas y compuestos fenólicos extraídos de la planta de maíz.

-Identificación de antocianina y compuestos fenólicos presentes en el grano de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Establecimiento de campo y material vegetal

El establecimiento de campo se realizará en parcelas experimentales ubicadas en la Universidad Autónoma de Sinaloa, Para el establecimiento de campo los maíces se establecerán en bloques completamente al azar el cual consistirá en 3 razas de maíces nativos las cuales tendrán una población de 150 plantas por bloque, se establecerán 5 plantas por metro lineal a una distancia de 80 cm entre surcos, las plantas se establecerán en macetas con 1.5 litros de sustrato y serán regadas con déficit de agua diferente para cada planta de acuerdo a su ciclo biológico.

- Sistema de riego

El riego se realizará mediante riego controlado por cada tratamiento, el cual será suministrado en las cantidades establecidas para cada cultivo.

- Material Vegetal

Las Muestras de maíz criollo se obtendrán en la facultad de agronomía ubicada en Culiacán, Sinaloa. El material extraído para trabajo de laboratorio se lavará previamente para eliminar la tierra. Se secarán todas las muestras a 70 °C y se molerán en un molino para obtener la harina, la cual será almacenada a -20 °C hasta su análisis.

- Extracción de Fenólicos Libres

La extracción de fenólicos libres se realizará según lo propuesto por Adom y Liu (2002). Se pesarán 0.5 g de harina de cada muestra en tubos para centrífuga de 50 mL, enseguida, en cada tubo se adicionarán 10 mL de una solución etanólica fría al 80% y se mezclara la preparación en un homogeneizador de tejidos ULTRA-TURRAX®. Después, las muestras se incubarán a 25 °C con agitación a 200 rpm por 2 h en una incubadora Thermo Scientific Max 4000.29 Finalmente, las muestras se centrifugarán a 10,000 rpm durante 15 min a 4°C en una centrífuga Thermo Scientific Sorvall Legend XTR, se recolectará el sobrenadante en viales y se almacenará a -20 °C para su posterior análisis.

- Extracción de Fenólicos Ligados

La extracción de fenólicos ligados se realizará según la metodología propuesta por Adom y Liu (2002). La pastilla obtenida de la extracción de fenólicos libres, se le adicionaron 10 mL de NaOH 2N y se agitará en un vortex, posteriormente, ésta mezcla se someterá a baño maría durante 30 min a 95 °C, con agitaciones cada 5 min para llevar a cabo una hidrólisis alcalina. Al término de este periodo, la muestra se colocará en un agitador rotatorio durante 1 h a 25 °C a 200 rpm, y se le adicionarán 2 mL de HCl concentrado, se

homogenizará en un vortex y se añadirán 10 mL de hexano por las paredes de los tubos. Después, se centrifugará a 10,000 rpm durante 10 min a 10 °C. El sobrenadante se desechará y el pellet se someterá a cinco lavados con 10 mL de acetato de etilo en cada uno. El acetato de etilo se evaporará completamente en un Rotavapor BUCHI®, utilizando vacío a una temperatura de 35 °C. Los fenólicos ligados se reconstituirán añadiendo 2 mL de etanol 80%.

Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales

El ensayo de Folin-Ciocalteu (Swain y Hillis, 1959) se empleará para determinar el contenido fenólico total en cada extracto. Se tomará una alícuota de 15 µL de muestra y se colocará en una microplaca Costar® de 96 pozos, se adicionarán 240 µL de agua destilada y 15 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 3 min de incubación, la reacción se detendrá adicionando 30 µL de Na₂CO₃ 4N y se incubará 2 h en oscuridad. El contenido fenólico total se determinará a una absorbancia de 725 nm en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek®, Inc, EEUU). Se preparará una curva de calibración usando ácido gálico (0 a 0.4 mg·mL⁻¹) y el contenido fenólico total se calculará y expresará como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de peso seco de muestra.

Capacidad del Secuestro del Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

La determinación de la capacidad antioxidante se realizará mediante la metodología propuesta por Brand-Williams et al., (1995). Para el ensayo se tomará una alícuota de 20 µL de cada extracto, y 280 µL del reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) 200 µM, se colocarán en una microplaca Costar® de 96 pozos y se incubará a temperatura ambiente por 30 min en la oscuridad. Posteriormente, se medirá la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm en un lector de Microplacas Synergy HT (BioTek®, Inc, EEUU). Se preparará una curva de calibración usando Trólox (0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8 y 1 mg·mL⁻¹) y la capacidad antioxidante se calculará y se expresará como mg equivalentes de Trólox (ET) por cada 100 g de peso seco de muestra.

Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno (ORAC)

La capacidad antioxidante de los extractos de cada muestra se evaluará utilizando el ensayo ORAC según la metodología propuesta por Huang et al. (2002), la cual se basa en la disminución de la fluorescencia inducida por un generador de radicales peroxil 2,2'-azobis, 2-amidino-propano dihidrocloruro (AAPH). Para el ensayo se tomará una alícuota de 25 µL del extracto diluido con buffer de fosfatos 75 mM (pH 7.4), 25 µL del blanco (buffer de fosfatos 75 mM) y 25 µL de una curva estándar de Trólox (6.25, 25, 50, 75, 100 y 125 µM), y se depositarán en una microplaca de poliestireno con fondo y paredes oscuras de 96 pozos. Posteriormente, la placa se introducirá en un lector de microplacas Synergy HT (BioTek®, Inc, EEUU) a una temperatura de incubación de 37 °C, el cual dispensará 200 µL de fluoresceína 0.96 µM y 75 µL de 2,2'-azobis, 2- amidino-propano dihidrocloro

(AAPH) 95.8 μM . La reacción iniciará una vez adicionado este último reactivo. La fluorescencia se leerá por 70 min con intervalos de 70 s a una longitud de onda de excitación de 485 nm y de emisión de 580 nm. Los cálculos se realizaron utilizando la ecuación de regresión lineal de la curva estándar de Trólox y el área bajo la curva de la pérdida de fluoresceína. Los resultados se expresarán en μM equivalentes de Trólox por g de muestra seca ($\mu\text{M TE}\cdot\text{g}^{-1}$).

1.1 Identificación y Cuantificación de Ácidos Fenólicos por UPLC-PDA

El extracto fenólico se filtrará a través de un filtro de jeringa de 0.2 μm de membrana de nylon en un vial, y 0.5 μL se analizarán en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (ACQUITY UPLC clase H), empleando una bomba cuaternaria Waters (Milford, MA, USA), equipado con un automuestreador y un detector ACQUITY UPLC® eλ de matriz de fotodiodos (PDA). Para la separación de ácidos fenólicos se utilizará una columna ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 μm x 2.1 mm x 100 mm) a 50 °C. La fase móvil consistirá de metanol: agua: ácido fórmico (A, 95:2:3, v/v/v) y: metanol: ácido fórmico (B, 95:2:3, v/v/v), con un flujo de 0.2 mL/min. Los compuestos fenólicos individuales se cuantificarán en base al área del pico detectada a una longitud de onda máxima de 320 nm contra curvas de calibración. Los estándares serán ácido gálico, ácido clorogénico, ácido caféico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico y ácido benzoico, los cuales se añadirán a una concentración de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Los datos se procesarán en el software "Empower 3" y se expresarán en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de muestra.

1.1 Análisis de Lignina

1.1.1 Preparación de la Muestra

Las muestras se prepararán para su análisis mediante extracción de compuestos hidrosolubles y liposolubles siguiendo el procedimiento del NREL (2008). El procedimiento consistirá en la extracción por método Soxhlet, primeramente, se colocarán a peso constante los matraces receptores en una estufa a 105 ± 5 °C por 12 h y se registrará el peso. Se añadirá a un dedal aproximadamente 2 g de muestra y se registrará el peso. Posteriormente, las muestras serán secuencialmente extraídas con acetona, agua y etanol, con aproximadamente 150 mL de cada uno y se colocarán a 56 ,100 y 80 °C respectivamente en una placa de calentamiento. El reflujo se mantendrá durante 8, 3 y 8 h respectivamente. Después de este tiempo, se removerá el dedal y se transferirá el sólido extraído a un papel filtro en un embudo. Se lavarán los sólidos con aproximadamente 100 mL de etanol y se permitirá que los sólidos se sequen usando filtración al vacío. El solvente se removerá usando un rotavapor BUCHI® a una temperatura de 40 °C con vacío. Al término de la evaporación del solvente, se colocará el matraz en un horno a 40 °C durante 24 h y se registrará el peso.

1.1.1 Determinación de Lignina

La lignina ácido insoluble (LAI) se determinará de acuerdo al método TAPPI 222 (TAPPI, 2002). Se colocará en un matraz Erlenmeyer 250 mg de muestra libre de extraíbles y se le añadirá 4 mL de ácido sulfúrico 72% (10-15 °C) manteniendo el matraz en un baño a 2 °C durante la dispersión del material. Posteriormente, el matraz se cubrirá y se mantendrá en agitación por 2 h y se añadirán 96 mL de agua destilada. La solución anterior se llevará a ebullición durante 4 h, 33 manteniendo un volumen constante (100 mL) mediante la adición de agua destilada caliente. El material insoluble (lignina) que quede al término de este tiempo se filtrará y se tomará una alícuota del sobrenadante para la determinación de lignina ácido-soluble, y el sólido se lavará con agua destilada caliente, después, se secará en un horno a 40 °C para su determinación gravimétrica.

1.1.1 Determinación de Lignina Ácido-Soluble

La lignina ácido soluble (LAS) se determinará de acuerdo al método propuesto por Ehrman (1996), midiendo la absorbancia del hidrolizado (filtrado) a 205 nm, usando como blanco la solución de H₂SO₄ 3% (m/m) utilizada en la determinación de lignina ácido-insoluble. Cada muestra se analizará por triplicado, y se determinará la media de estas mediciones, la lignina ácido soluble se calculará según la fórmula:

Cálculo de lignina ácido soluble:

$$\text{LAS (\% sobre fibra seca)} = (A \cdot V) / (a \cdot m)$$

Dónde:

A= absorbancia a 205 nm (AU)

V= volumen final del hidrolizado (mL)

a= coeficiente de extinción 110 L·(g·m)⁻¹

1.1 Análisis Estadístico

Los análisis se llevarán a cabo por triplicado y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar. Para los resultados del ensayo de Folin-Ciocalteu, ORAC y DPPH se utilizará una curva estándar de ácido gálico, y de Trólox respectivamente, la media y desviación estándar se calcularán en Excel.

La comparación de medias se determinará usando la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%. Los datos se analizarán con el paquete estadístico Minitab Statistical Software, versión 17 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

LITERATURA CITADA

Adom, K.F., Liu, R.H., 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6182e6187.

Aguilar J., C. Illsley y C. Marielle. 2003. Los sistemas agrícolas de maíz y sus procesos técnicos. *In: Sin Maíz No Hay País*. G. Esteva, C. Marielle (eds.). CONACULTA, México, D. F. pp: 123-154.

Cohen, S. y Kennedy, J. 2010. Plant Metabolismo and the Enviroment: Implications for Managing Phenolics. *Food Sci Nutr*. 50: 620-643.

De la Parra, C., S. O. Serna-Saldivar, and R. H. Liu. 2008. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *J. Agric. Food Chem*. 55: 4177-4183.

Dry, P.R., B.R. Loveys, M.G. Mccarthy, and M. Stoll. 2001. Strategic irrigation management in Australian vineyards. *J. Int. Sci. Vigne Vin* 35:129-139.

Ehrman, T., 1996. Determination of acid-soluble lignin in biomass. National Renewable Energy Laboratory, Technical Report NREL-LAP-004, Golden, CO. El Mansouri, N.E., Yuan, Q., Huang, F., 2011. Characterization of alkaline lignins for use in phenol-formaldehyde and epoxy resins. *Bioresources* 6(3), 2647-2662.

Fernández-Suárez R., L. M. Morales-Chávez y A. Gálvez-Mariscal. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(Supl. 3-A):275-283.

García-Lara S. and D. J. Bergvinson (2013) Identification of maize ladraces with high level of resistance to storage pests *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Prostephanus truncatus* horn in Latinamerica. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(Supl. 3-A):347-356.

Gaytán-Martínez M., J. D. Figueroa-Cárdenas, M. I. Reyes-Vega, E. Morales-Sánchez y F. Rincón-Sánchez (2013) Selección de maíces criollos para su aplicación en la industria con base en su valor agregado. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(Supl. 3-A):339- 346.

Harborne, J. B., and R. Self. 1987. Malonated cyanidin 3 glucosides in *Zea mays* and other grasses. *Phytochemistry* 26, 2417-2418.

Heinonen, I., Meyer, A. S., & Frankel, E. N. (1998) Antioxidant activity of berryphenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4107–4112.

Herrmann, M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *Plant Cell*. 1995; 7: 907-919.

Integrated Taxonomic Information System, I., 2018. *Zea mays* var. *mays* L. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=798648 (Fecha de acceso 07/03/2018).

- Jiménez, G., Ducoing, H. y Sosa, M. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Rev. Mex Fitopatol.* 21: 355-363.
- Jing, P., J. A. Bomser, S. J. Schwartz, J. He, B. A. Magnuson, and M. M. Giusti. 2008. Structure–function relationships of anthocyanins from various anthocyaninrich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth. *J. Agric. Food Chem.*56: 9391-9398.
- Kang M. K., J. Li, J. K. Kim, J. H. Gong, S. N. Kwak, J. H. Park, J. Y. Lee, S. S. Lim and Y. H. Kang (2012) Purple corn anthocyanins inhibit diabetes-associated glomerular monocyte activation and macrophage infiltration. *American Journal of Physiology and Renal Physiology* 303: F1060-1069.
- Kuhnen S., P. M. Lemos, L. H. Campestrini, J. B. Ogliari, P. F. Dias and M. Maraschin (2011) Carotenoid and anthocyanin contents of grains of Brazilian maize landraces. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91:1548-1553.
- Kumar, A., Jat, S.L., Kumar, R., Yadav, O.P., 2013. Maize production systems for improving resource-use efficiency and livelihood security, in: Kumar, B., Jat, S.L., G, M., Yatish, K.R. (Eds.), *Maize production systems for improving resource-use efficiency and livelihood security*. Directorate of Maize Research, New Delhi, pp. 88-92.
- Liu, R. H. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *J. Cereal Sci.* 46: 207-219.
- Lopez-Martinez, L. X., R. M., Oliart-Ros, G. Valerio-Alfaro, C. H. Lee, K. L. Parkin, and S. H. Garcia. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Sci. Technol.* 42: 1187-1192.
- Mauricio-Sánchez R. A., J. D. C. Figueroa, S. Taba, M. L. Reyes, F. S. Rincón and A. G. Mendoza (2004) Characterization of maize accessions by grain and tortilla quality traits. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27:213-222.
- Montilla, C. E., S. Hillebrand, A. Antezana, and P. Winterhalter. 2011. Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 59: 7068-7074.
- Moreno, F. 2009. Plant responses to water deficit stress. A review. *Agron colombiana.* 27: 179-191.
- Ortega-Paczka R. (2003) La diversidad del maíz en México. *In: Sin Maíz No Hay País.* G. Esteva y C. Marielle (eds.). Consejo Nacional para la Cultura y las Artes Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México. pp:123-154.
- Ortega-Paczka R. (2003) La diversidad del maíz en México. *In: Sin Maíz No Hay País.* G. Esteva y C. Marielle (eds.). Consejo Nacional para la Cultura y las Artes Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México. pp:123-154.

Pedreschi, R., and L. Cisneros-Zevallos. 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem.* 100: 956-963.

Poltronieri, P., Bonsegna, S., De, S. y Santino, A. 2011. Molecular Mechanisms in Plant Abiotic Stress Response. *Field Veg. Crop Res.* 48: 15-24.

Ramírez A. M., Y. Salinas-Moreno y O. R. Taboada-Gaytán (2003) Maíz azul de los valles altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26:1001- 1007.

Rice-Evans, C. A., & Miller, N. J. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Society Transactions*, 24, 790–795.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20(7), 933–956.

Salinas M. Y., M. Soto H., F. Martínez B., V. González H., y R. Ortega P. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Rev. Fitotec. Mex.* 22: 161-174.

Salinas-Morelo, Y., F. Martínez-Bustos, M. Soto-Hernández, R. Ortega-Paczka, y J. L. Arellano Vázquez. 2003. Efecto de lanixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 37: 617-628

Salinas-Moreno Y., C. García-Salinas, B. Coutiño-Estrada y V. A. Vidal- Martínez (2013) Viabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(Supl. 3-A):285-294.

Salinas-Moreno Y., J. J. Pérez-Alonso, G. Vázquez-Carrillo, F. Aragón- Cuevas y G. A. Velázquez-Cardelas (2012) Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas Chalqueño, Elotes Cónicos y Bolita. *Agrociencia* 47: 815-825.

Salinas-Moreno, Y., G. Salas-Sánchez, D. Rubio-Hernández, and N. Ramos-Lobato. 2005. Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *J. Chromat. Sci.* 43: 483-487.

Sánchez, J.J., Godman, M.M., Stuber, C.W., 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of México. *Economic Botany* 54, 43e59.

Setchell, K. D. R., & Aedin, C. (1999). Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *Journal of Nutrition*, 129, 758–767.

STRACK, D. 1997. Phenolic metabolism in *plant biochemistry*. Academic Press; 10: 387-437.

TAPPI, 2002. Acid-insoluble lignin in wood and pulp. TAPPI Test Method T222.

Vielle-Calzada, J.P., Padilla, J., 2009. The mexican landraces: description classification and diversity. In: Handbook of Maize Its Biology. Jeff Bennetzen and Sarah Hake, pp. 453e561.

Zilić S., A. Serpen, G. Akilhoğlu, V. Gökmen and J. Vančetović (2012) Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:1224-1231.

Zilic, S., A. Serpen, G. Akillioglu, V. Gökmen, and J. Vancetovic. 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J. Agric. Food Chem.* 60: 1224-1231.

RESISTENCIA A *Bemisia tabaci* Genn. EN TOMATE SILVESTRE Y CRIOLLO
Millán-Chaidez, Reynaldo¹ ; Retes-Manjarrez, Jesús Enrique¹, Garzón-Tiznado, José Antonio²

¹Colegio de Ciencias Agropecuarias, Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa.

Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad De Agronomía dirección: Km.17.5,
Carretera Culiacán-eldorado, c.p. 80000.

Correo electrónico : reynaldomillan@yahoo.com

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue encontrar fuentes de resistencia a *Bemisia tabaci* (Bt) en poblaciones silvestres y criollas de tomate de México. Se hicieron dos experimentos de no-libre-elección del insecto para buscar antibiosis en 22 poblaciones silvestres y criollas de tomate. Diez plantas de cada población fueron infestadas con veinte insectos por un folíolo de cada planta directamente a través de micro-jaulas de organza. A los cuatro días post infestación (dpi), se contabilizaron el número de adultos muertos y huevecillos, y a los 20 dpi el número de ninfas, adultos nuevos, índice de reproducción y tricomas por 8 mm². La población UTC-SV13 tuvo significativamente el mayor grado de antibiosis seguido de los genotipos UTC-SV12, UTC-CR2 y UTC-SV15 con un promedio de 20.0, 18.8, 17.6 y 17.2 adultos muertos por folíolo. Estos mismos genotipos (UTC-SV13, UTC-SV12, UTC-SV1 y UTC-SV3) mostraron el menor promedio de huevos 0.0, 14.9, 15.2 y 16.5, ninfas con 0.0, 6.5, 11.4 y 12.6, adultos nuevos con 0.0, 2.1, 7.8 y 9.7, y el menor índice de reproducción con 0.0, 19.6, 20.0 y 21.7, respectivamente. Por otra parte, los genotipos UTC-CR2, UTC-SV9, UTC-SV5, UTC-SV4, UTC-SV15, UTC-SV11, UTC-CR1, UTC-SV2, UTC-SV6 y UTC-SV14 mostraron un nivel de resistencia moderada significativamente menor que el resto de los genotipos y el control susceptible que no mostraron ningún nivel de antibiosis a Bt. El número de tricomas por 8 mm² se correlacionó positiva y significativamente con el número de huevecillos, ninfas y nuevos adultos de Bt, indicando que este tipo de tricomas no generan antibiosis a este insecto. Estas diferentes fuentes de resistencia a Bt son prometedoras para la generación de cultivares de tomate resistentes a Bt.

Palabras clave: antibiosis, *Bemisia tabaci*, no-libre elección, resistencia, *Solanum lycopersicum*.

La mosca blanca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemíptera: Aleyrodidae) es una de las plagas más devastadoras que afectan al cultivo del tomate en México y otras partes del mundo. Este insecto no solo causa daños directos como la absorción del floema, secreción de compuestos azucarados que promueven la formación de fumagina (*Capnodium spp.*) que limitan el proceso de fotosíntesis (Byrne and Miller, 1990; Oliveira, M.R.V.; Henneberry, T.J.; Anderson, P. 2001), así como la madurez irregular de frutos (Schuster, Stansly, & Polston, 1995) e indirectamente por ser un vector transmisor de

diferentes tipos de virus (Morales, F. J., and Jones, P. G. , 2004). Uno de los virus más destructivos que transmite es el Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) que ocasiona pérdidas económicas en la producción de tomate y otros cultivos (Moriones and Nava-Castillo, 2000).

Diferentes métodos de control a mosca blanca son usados; sin embargo, no todos han sido efectivos y sostenibles en campo abierto o invernadero (Van Lenteren et al., 1996; Vidal, et al., 1998) y presentan deficiencias en prevenir la transmisión de virus (Gill, R.J. and Brown, 2010). El principal método de control para esta plaga está basado en la aplicación de pesticidas, no obstante, la eficiencia de estos productos químicos han disminuido su efectividad, además de altos costos, toxicidad al medio ambiente, al agricultor, fauna silvestre y organismos benéficos del suelo. Sin embargo, la mosca blanca desarrolla resistencia en la progenie a estos pesticidas (Palumbo et al., 2001; Vassiliou, et al., 2011).

En base a esto, es necesario utilizar otras alternativas mediante el análisis de las interacciones insectos-planta, con la combinación armoniosa de los componentes del manejo integrado de plagas (MIP) con el fin de obtener efectos duraderos y más estables. La resistencia genética ha sido identificada como el componente más importante del MIP, seguido por las medidas fitosanitarias, culturales y legales (Morales, 2006), permitiendo la obtención de cultivares resistentes que se han desarrollado en diferentes cultivos como algodón (Heinz and Zalom, 1995), alfalfa (Teuber et al., 1996).

En este sentido, los recursos genéticos contenidos en parientes silvestres del tomate cultivado son una alternativa prometedora para el control de Bt (Broekgaarden et al., 2011; Bruce, 2010), que se pueden usar como fuentes de resistencia y como herramienta efectiva para minimizar los daños causados por insectos fitófagos. Algunas especies de tomates silvestres se han reportado como resistentes a mosca blanca (*S. pimpinellifolium*, *S. chilense*, *S. habrochaites*, *f. glabratum*, *S. pennellii*) (Baldin et al., 2005; Fancelli & Vendramim, 2002; Maliepaard et al., 1995; Maruthi et al., 2008; Muigai et al., 2002; Muigai et al., 2003; Nombela et al., 2000; Toscano et al., 2002) los cuales pueden ser utilizadas como donantes de resistencia en los programas de mejoramiento.

Las plantas poseen diferentes mecanismos de defensa que pueden alejar o rechazar a herbívoros o suprimir el crecimiento de un patógeno y en alguno de los casos causar mortalidad a ambos (Walters, 2010b). Los mecanismos de resistencia fueron descritos por (Painter, 1951) y los clasificó en tres categorías, no preferencia o antixenosis, antibiosis y tolerancia. Antixenosis puede ser definido como las características de la planta (color, forma, olor) que actúan como repelente al insecto haciéndola menos atractiva para alimento, ovipositar, alojamiento o refugio. Antibiosis se refiere cuando las características de la planta interfieren con la biología del insecto reduciendo la fecundidad, tamaño, longevidad y el incremento en la mortalidad. Tolerancia, es la habilidad de la planta para soportar el ataque del insecto herbívoro sin alterar su crecimiento.

Estudios de resistencia en tomates silvestres a *Bt* están asociados con las características físicas externas de la superficie de las hojas como las vellosidades, tricomas glandulares,

forma de la hoja y el grosor de la cutícula (Berlinger, 1986; Boiça et al., 2007; Oriani & Vendramim, 2010; Oriani et al., 2011), y también por los compuestos químicos sintetizados por la planta y presentes en los tricomas glandulares tipo IV y VI, como los acylazucares, metilquetonas y sesquiterpenos que pueden causar alta mortalidad en adultos de mosca blanca, específicamente los acylazucares que atrapan al adulto evitando la colonización del insecto y por lo tanto su alimentación (Heinz & Zalom, 1995; Liedl et al., 1995; Rodríguez-López et al., 2012). La producción de tomate a escala mundial es importante para la población y se requieren estudios de resistencia genética de plantas hospedantes que ayuden a disminuir los daños causados por mosca blanca. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue encontrar resistencia del tipo antibiosis a Bt en genotipos de tomates silvestres y criollos de tomate que ayuden a los programas de mejora de este cultivo en el manejo integrado de este insecto.

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

La mosca blanca es una de las plagas más amenazantes que afectan a Solanáceas y otros cultivos de importancia económica en México y a escala mundial. El control primario para este insecto es la aplicación de pesticidas que no solo tiene altos costos económicos, también contamina el ambiente, el hombre, fauna benéfica, microorganismos del suelo, además de desarrollar resistencia a insecticidas en la progenie de esta plaga. El problema fundamental de este insecto es que es transmisor de diferentes virus, ocasionando pérdidas del 50 al 100% en cultivares de importancia económica. La resistencia genética de plantas resistentes a artrópodos es una alternativa para desarrollar nuevos cultivares resistentes a plagas y enfermedades. Los parientes silvestres del tomate cultivado poseen recursos genéticos de resistencia a factores bióticos y abióticos que pueden ser utilizados en el mejoramiento del tomate cultivado. Hasta la fecha, no existen estudios en México sobre resistencia a mosca blanca que incluyan accesiones silvestres y criollas presentes en los diferentes estados de México.

HIPÓTESIS

Existe resistencia genética a *Bemisia tabaci* en genotipos silvestres y criollos de *Solanum lycopersicum* de México.

OBJETIVO GENERAL

Buscar resistencia a *Bemisia tabaci* en genotipos silvestres y criollos presentes en México.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la mortalidad de adultos de mosca blanca, oviposición, ninfas, nuevos adultos emergidos en cada genotipo de tomate silvestre, criollo y comercial.
- Determinar el índice de reproducción y el nivel de resistencia a *Bemisia tabaci* en cada genotipo de tomate silvestre, criollo y comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron frutos de entre 10 a 20 plantas de materiales silvestres y criollos de cada uno de los 22 genotipos de tomate en diferentes estados de México (Tabla 1), utilizando estas especies para los experimentos de los dos ensayos (2016; 2018). El cultivar “Bony Best” fue utilizado como control por su alta susceptibilidad a mosca blanca. Las semillas fueron germinadas en charolas de 200 cavidades de poliestireno en condiciones de invernadero ($30 \pm 2^\circ\text{C}$; HR: $56 \pm 5\%$).

Colonia de insectos

Adultos de mosca blanca fueron colectados con un succionador entomológico en un cultivo de plantas de calabaza (*Cucurbita spp.*) en condiciones de campo abierto. Las moscas fueron colocadas en plantas de tomate *Solanum L.* en jaulas de madera cubiertas de organza según (Toscano et al., 2002) y se mantuvieron durante 60 días dentro de un invernadero a temperatura ambiente. Las plantas de tomate fueron sustituidas por plantas jóvenes cada semana para su alimentación. Para identificar el biotipo de mosca blanca en este estudio, se utilizó la técnica molecular de PCR punto final con los iniciadores específicos: Biotipo F y Biotipo R (Kang et al., 2012) y se confirmó *Bemisia tabaci* biotipo Q.

Ensayos de resistencia a Bemisia tabaci

Se realizaron dos experimentos bajo condiciones de invernadero ($30 \pm 2^\circ\text{C}$; HR: $56 \pm 5\%$) durante Enero de 2017 y Febrero de 2018 en la empresa “Fito-ciencia” ubicada en Culiacán, Sinaloa, México. En ambos experimentos, los genotipos fueron infestados cuando estos tenían entre la tercer y cuarta hoja verdadera con mosca blanca a través del método de no-libre elección de los insectos con micro-jaulas colocadas directamente sobre un folíolo de la segunda hoja verdadera de cada planta de cada genotipo. Se usaron 10 plantas de cada una de las 23 poblaciones a evaluar y cada planta fue considerada como una repetición. En ambos experimentos se utilizó un diseño completamente al azar. Para analizar la resistencia a mosca blanca de estos genotipos, se contabilizaron a los cuatro días (dpi) el número de adultos muertos y huevecillos, y a los 30 días (dpi) se contabilizó el número de ninfas, nuevos adultos y el número de tricomas. Se utilizó un microscopio estereoscopio LUXEO 2S (30X) para contar el número de tricomas por 8 mm^2 y se midió solamente en el segundo ensayo de este experimento.

La evaluación de resistencia de las veintitrés poblaciones de tomate fue basado en el índice de reproducción (IR) propuesto por Taylor, (1967) con algunas modificaciones. El IR fue calculado de la siguiente manera: número de huevecillos del genotipo evaluado dividido entre el promedio de huevecillos del cultivar susceptible multiplicado por 100. La clasificación de los diferentes niveles de resistencia fue de la siguiente manera: RI = 0 (inmune), RI: 1 a 25 (resistente), RI: 25 a 50 (moderada resistencia), RI > 50 (susceptible), RI \geq 100 (altamente susceptible).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los ensayos de resistencia a mosca blanca de las 23 poblaciones de genotipos silvestres, criollos y comerciales fueron sometidos a un análisis de varianza no paramétrico con la prueba de Kruskal-Wallis para determinar la significancia entre genotipos ($p < 0.05$), después de la corrección Holm-Bonferroni. Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre el número de tricomas con huevecillos, ninfas y adultos de mosca blanca, todos los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico InfoStat-Statistical Software, versión 2017.

RESULTADOS

No hubo diferencia significativa en adultos muertos, número de huevecillos, ninfas y adultos emergidos en los 2 experimentos (2016 y 2018): ($H = 1.52$; gl: 1; $p = 0.218$), ($H = 1.59$; gl: 1; $p = 0.207$), ($H = 1.28$; gl: 1; $p = 0.258$), ($H = 1.32$; gl: 1; $p = 0.281$), por lo tanto, los resultados fueron considerados como un solo ensayo.

Mortalidad de adultos de Bemisia tabaci.

Diferencias significativas fueron observadas en el número de adultos muertos entre los tratamientos después de 96 h (DPI) ($H=83.28$; gl: 22; $p= 0.0001$). El genotipo UTC-SV13 mostró significativamente el nivel más alto de mortalidad comparado con la mayoría de los genotipos, seguido de UTC-SV12, UTC-CR2, UTC-SV15, UTC-SV2 con un promedio de adultos muertos de 20.0, 18.8, 17.6, 17.2 y 16.6, respectivamente (Figura 1). Por otra parte, los genotipos UTC-SV8, UTC-CR3 y UTC-SV3 tuvieron una mortalidad de adultos significativamente mayor que el cultivar comercial con un valor medio de 15.2, 15.2 y 15.0, respectivamente. El resto de los 14 genotipos tuvieron en promedio 10.9 adultos muertos y estos no mostraron diferencia significativa con el cultivar comercial que tuvo una media de 8.6 insectos muertos.

Oviposición de Bemisia tabaci.

La mayoría de los genotipos tuvieron una alta densidad de huevos después de cuatro (DPI), aunque hubo diferencia significativa entre tratamientos para éste parámetro ($H=67.39$, gl: 22, $p<0.0001$) (Tabla 2). El genotipo UTC-SV13 mostró significativamente el menor número de huevecillos comparado con los demás genotipos, seguido por UTC-SV12, UTC-SV1, UTC-SV3, UTC-CR2, UTC-SV9, UTC-SV5 y UTC-SV4 con un promedio de huevecillos de 0.0, 14.9, 15.2, 16.5, 19.1, 28.8, 29.5 y 30.7 respectivamente (Tabla 2). El resto de los genotipos tuvieron una media de 42.6 y no mostraron diferencia significativa con el cultivar comercial con media de 76.0 huevecillos.

Densidad de ninfas de mosca blanca.

La mayor parte de los genotipos mostraron un promedio de ninfas intermedio, con diferencias significativas entre los tratamientos ($H=75.45$, GL: 22, $p=0.0001$). El genotipo UTC-SV13 mostró significativamente el menor número de ninfas en relación a los demás genotipos, seguido por UTC-SV12, UTC-SV1, UTC-SV3, UTC-CR2, UTC-SV9, UTC-SV5,

UTC-SV4 y UTC-CR4 con un promedio de 0.0, 6.5, 11.4, 12.6, 13.4, 14.7, 17.3, 19.6 y 23.4 ninfas, respectivamente (Figura 2). Por otra parte, los genotipos UTC-SV15, UTC-SV11, UTC-CR1, UTC-SV2, UTC-SV6, UTC-SV14, UTC-SV7, UTC-SV10, UTC-CR6, UTC-CR4, UTC-SV8, UTC-CR3, UTC-CR7 tuvieron una media de 29.1 y no mostraron diferencia significativa con el cultivar comercial “Bony Best” que presentó una media de 65.5 ninfas.

Nuevos adultos de Bemisia tabaci.

La mayoría de los genotipos desarrollaron nuevos adultos, sin embargo, hubo diferencias significativas para esta variable entre genotipos ($H=78.98$, gl: 22, $p=0.0001$) (Tabla 2). Nuevamente el cultivar UTC-SV13 mostró significativamente el nivel más bajo de adultos emergidos comparado con la mayoría de los genotipos, seguido por los genotipos UTC-SV12, UTC-SV1, UTC-CR2, UTC-SV5, UTC-SV4, UTC-SV9, UTC-SV6 que tuvieron valores medios de nuevos adultos de 0.0, 2.1, 7.8, 7.3, 7.7, 8.5, 9.4 y 9.7, respectivamente (Tabla 2). Los otros 14 genotipos tuvieron en promedio 17.2 nuevos adultos y no mostraron diferencia significativa con el cultivar comercial “Bony Best” que tuvo un promedio de 55.9 moscas blancas.

Densidad de tricomas

Diferencias significativas entre genotipos fueron detectadas en el número de tricomas por 8 mm² ($H=107.57$; GL: 22, $p=0.0001$), mostrando una densidad de tricomas intermedia en la mayoría de los genotipos. Alta densidad de tricomas fue observada en los cultivares “Bony Best”, UTC-CR6, UTC-SV11, UTC-CR7 y UTC-SV8. Baja densidad de tricomas en UTC-SV6, UTC-SV9, UTC-SV4, UTC-SV7 y UTC-SV2. Los genotipos UTC-SV13, UTC-SV12 y UTC-SV1 que mostraron la menor incidencia de todos los estadios biológicos de Bt tuvieron significativamente una menor cantidad de tricomas con alrededor de 45.7 / 8mm² en comparación con el cultivar comercial que tuvo 83.2 tricomas / 8 mm² (Tabla 2). Positivas correlaciones fueron encontradas entre la densidad de tricomas de los genotipos y la oviposición, ninfas y adultos de B. tabaci las cuales se clasificaron como baja ($\pm 0.18-0.30$), moderada ($\pm 0.31-0.50$), alta ($\pm 0.51-0.75$) y muy alta (± 0.76). Número de tricomas y densidad de huevecillos estuvieron moderadamente correlacionados (figura 3, A) ($r = 0.45$; $p= 0.03$), correlación moderada el número de ninfas y tricomas (Figura 3, B) ($r= 0.49$; $p=0.01$) y alta correlación con los nuevos adultos ($r= 0.52$; $p=0.01$) (Figura 3, B), sugiriendo que los cultivares con mayor densidad de tricomas recibieron la mayor oviposición de adultos de Bemisia tabaci.

Índice de reproducción

La mayoría de los cultivares de tomate mostraron índices de reproducción intermedio con diferencias significativas entre tratamientos ($H= 66.96$; gl: 22; $p<0.0001$). Basados en el número de huevecillos el índice de resistencia ó reproducción del genotipo UTC-SV13 mostró el índice más bajo con clasificación “Inmune” seguido por UTC-SV12 y UTC-SV1 que fueron “resistentes” (Figura 3). Los genotipos UTC-SV3, UTC-CR2, UTC-SV9, UTC-SV5, UTC-SV4, UTC-SV15, UTC-SV11, UTC-CR1, UTC-SV2, UTC-SV6 y UTC-SV14 fueron “moderadamente resistentes” de acuerdo a su índice de reproducción (Tabla 2)

con media de 42.0 % y no presentaron diferencias significativas con el cultivar comercial Bony Best, los genotipos restantes UTC-SV7, UTC-SV10, UTC-CR6, UTC-CR4, UTC-SV8, UTC-CR5, UTC-CR7, UTC-CR3 con una media de 64.9% fueron susceptibles y el cultivar comercial “Bony Best” (100 %) como “altamente susceptible”.

DISCUSIÓN

El genotipo UTC-SV13 mostró el mayor nivel de mortalidad de mosca blanca después de 4 DPI (figura 2) el cual indica que los factores que afectan la supervivencia del insecto es la mejor opción defensiva de la planta de tomate con la prueba de no elección (E. Baldin & Beneduzzi, 2010), UTC-SV13 mostró presencia de tricomas tipo IV que generalmente es un indicador de resistencia a *Bemisia tabaci* en tomate silvestre (Oriani & Vendramim, 2010; Toscano et al., 2002), y presentó el mayor número de insectos atrapados por los exudados pegajosos que liberan los tricomas glandulares tipo IV llamados acylazucars que están presentes en *Solanum pennelli* LA716 (Liedl et al., 1995) y que poseen un alto grado de resistencia a mosca blanca (Berlinger, 1986; De Ponti et al., 1975).

La oviposición de *Bemisia tabaci* fué afectada por factores de antibiosis o preferencia la cual fué seleccionada por la hembra adulta por el color del genotipo, olfato y semioquímicos (Bleeker et al., 2009, 2012) para la adaptabilidad y desarrollo de su descendencia según la teoría de (Van Lenteren & Noldus, 1990). El genotipo de tomate silvestre UTC-SV13 mostró la mayor resistencia a *B. tabaci* no hubo oviposición, no reproducción que comparado con “Bony Best” obtuvo el mayor número de huevecillos con el mayor número de tricomas no glandulares, éste resultado confirma que algunos autores con trabajos

de resistencia en otros cultivos sugieren que a mayor infestación de adultos mayor será la oviposición (Baldin et al., 2017), además por su calidad de follaje y su composición química (Walker & Perring, 1994). La presencia de tricomas glandulares se considera una de las causas principales de resistencia morfológica de la hoja que puede influir en la disminución de oviposición y alimentación por insectos chupadores (Heinz & Zalom, 1995; Mcauslane, 1996; Sippell et al., 1987). Sin embargo, “Bony Best” fué el más pubescente, coincidiendo con otros autores que sugieren que la oviposición de mosca blanca indica la aceptación de la planta como refugio más que como alimento (Walker & Perring, 1994).

El desarrollo de ninfas de mosca blanca fué estadísticamente significativo entre genotipos con alta viabilidad de inmaduros, UTC-SV13 no mostró viabilidad debido a su rasgo genético de resistencia, comparado con “Bony Best” que mostró 85.3 % de viabilidad, UTC-SV12 (32%) y UTC-CR4 (54.8%). Los genotipos con baja densidad fueron UTC-SV13, UTC-SV12, UTC-SV5, UTC-SV9, UTC-SV1, y UTC-CR2 ya que fueron los menos preferidos por *B. tabaci*. Por lo tanto, los genotipos silvestres y criollos mostraron una mortalidad intermedia a diferencia de la menor mortalidad en el cultivar susceptible TC-11 (Tabla 2); Sin embargo, según (Liedl et al., 1995) sugiere que los aleloquímicos no afectan el desarrollo de las ninfas de mosca blanca.

En nuestro estudio, la emergencia de nuevos adultos de mosca blanca estuvo asociada a la selección inicial del hospedante y desarrollo posterior de cada etapa o por la supervivencia de adultos. Los genotipos silvestres mostraron a las 6 semanas de edad el 25% de mortalidad desde huevos a nuevos adultos de mosca blanca, excepto por SV13 donde no hubo reproducción del insecto. En este contexto, (Elsen et al., 2016) confirmó que el porcentaje de plantas de tomate sin adultos de mosca blanca incrementó de 15 % cuando las plantas tuvieron 6 semanas de edad y con 64 % cuando tuvieron 20 semanas de edad. Por lo tanto, estos resultados también coinciden con los obtenidos por (Rakha et al., 2017) con la reducción de la población de adultos emergentes de *Tuta absoluta* estuvo asociada con la producción de acylazucres en plantas de *Solanum galapaguense* a las 6 semanas de edad. Estos resultados confirman que el método de no elección determina cómo influye el mecanismo de resistencia por antibiosis puede estar asociado a los efectos negativos en la biología del insecto (Jindal et al., 2008).

La presencia de tricomas glandulares y no glandulares en plantas de tomate actúan como un factor estimulante para la oviposición y alimentación de pequeños insectos chupadores, además es la principal causa de resistencia morfológica en plantas afectando el comportamiento y biología del insecto (Inbar & Gerling, 2008; Snyder et al., 1998). Por lo tanto, la importancia de estas estructuras morfológicas de las hojas como fuente de resistencia a *Bemisia tabaci*, ha sido reportada por diversos autores (Baldin et al., 2005; Fancelli et al., 2003).

En este trabajo, los cultivares más pubescentes fueron los de mayor densidad de huevos por mosca blanca, donde "Bony Best" mostró la mayor densidad de tricomas comparado con los demás genotipos de tomate (Tabla 2); Sin embargo, UTC-SV6 fue el menos denso pero con una oviposición intermedia (Figura 3), la mayoría de los genotipos mostraron una densidad moderada incluso el cultivar UTC-SV13. Nuestros resultados confirman que los altos rangos de oviposición de *B. tabaci* han estado asociado a las altas densidades de tricomas en hojas de tomate, así como soya y algodón (Flint & Parks, 1990; Heinz & Zalom, 1995; Mcauslane, 1996). Por lo tanto, se correlacionaron las diferentes etapas de desarrollo con la densidad de tricomas (Figura 3), mostrando una relación moderada entre estos parámetros, donde tricomas y huevos con $r= 0.45$, $p=0.03$ (Fig. 4 A), ninfas $r=0.49$, $p=0.01$ (Fig.4 B) y adultos $r=0.52$. $p= 0.01$ (Fig.4 C) mostraron una correlación ligeramente positiva. Sin embargo, estos resultados coinciden con algunos autores que investigaron especies silvestres de tomate con densidad de huevos $r= 0.48$ (Firdaus et al., 2012), $r= 0.40$ (Oriani & Vendramim, 2010), $r= 0.54$ (Baldin et al., 2012), en algodón (Berlinger, 1986; Butter & Vir, 1989), en soya (Mcauslane, 1996; McAuslane et al., 1995) y en melón (Baldin et al., 2012). Por otro lado, en comparación con otros estudios con tricomas glandulares tipo IV y IV con valores negativos altamente correlacionados con huevecillos de mosca blanca desde $r= -0.89$ hasta $r= -0.99$ (Neiva et al., 2013).

Con respecto al índice de reproducción de *B. tabaci* (Taylor,1967), el cultivar UTC-SV13 mostró una completa inmunidad al ataque de mosca blanca como consecuencia de los aleloquímicos expulsados por células secretoras de los tricomas glandulares, activados

por el complejo de proteínas que promueven la acción de fitohormonas como ácido jasmónico, ácido salicílico, etileno, auxinas que juegan un papel importante para la activación defensiva en respuesta al ataque de insectos alimentándose del floema como la mosca blanca, áfidos y patógenos (Puthoff et al., 2010; Walling, 2008; Zarate et al., 2006). Los tricomas del tipo IV también fueron observados en el cultivar UTC-SV12 en menor densidad generando resistencia a *B. tabaci* y clasificándose como resistente (Tabla 3). Sin embargo, en el cultivar UTC-SV1 no se observaron tricomas del tipo IV, pero mostró una categoría de resistencia aceptable, el resultado de este cultivar confirma que la resistencia regulada por el gen *Mi-1.1* es independiente de la presencia de tricomas glandulares o sus exudados sobre la superficie de las hojas (Nombela et al., 2003), de acuerdo a experimentos previos donde los tricomas IV y VI estuvieron ausentes en todas las plantas evaluadas (Nombela et al., 2000). Los demás genotipos fueron moderadamente resistentes y susceptibles comparados con el cultivar “Bony Best” que fué altamente susceptible a mosca blanca.

CONCLUSIÓN

La resistencia genética a *B. tabaci* es la alternativa más eficiente, económica y que causa menor impacto ambiental controlando este hemíptero. La búsqueda de resistencia a *B. tabaci* en genotipos silvestres de *Solanum lycopersicum* en México, muestra que es posible encontrar fuentes de resistencia a mosca blanca. El genotipo UTC-SV13 es un buen candidato para desarrollar nuevos cultivares de tomate resistentes a mosca blanca. Por lo tanto, el cultivar UTC-SV13 fué considerado como Inmune a *B. tabaci* y debería ser usado en la incorporación de genes de resistencia en cultivos de tomate.

LITERATURA CITADA

- Baldin EL, Beneduzzi RA, 2010. Characterization of antibiosis and antixenosis to the whitefly silverleaf Bemisia tabaci B biotype (Homoptera: Aleyrodidae) in several squash varieties. *J Pest Sci*, pp.83:221–227.
- Baldin ELL; Silva JPGF; Pannutti LER., 2012. Resistance of melon cultivars to Bemisia tabaci biotype B. *Horticultura Brasileira*, pp.30: 600-606.
- Baldin, E.L., J.D. Vendramin, e A.L. Lourenção. , 2005. Resistência de genótipos de tomateiro à mosca-branca Bemisia tabaci (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology* , pp.34:435-441.
- Berlinger, M.J., 1986. Host plant resistance to Bemisia tabaci. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, pp.17:69-82. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(86\)90028-9](https://doi.org/10.1016/0167-8809(86)90028-9).
- Bleeker, P. M., Diergaarde, P. J., Ament, K., Guerra, J., Weidner, M., Schutz, S., Schuurink, R. C., 2009. The Role of Specific Tomato Volatiles in Tomato-Whitefly interaction. *Plant Physiology*., pp.<https://doi.org/10.1104/pp.109.142661>.
- Bleeker, P. M., Mirabella, R., Diergaarde, P. J., VanDoorn, A., Tissier, A., Kant, M. R., Schuurink, R. C. , 2012. Improved herbivore resistance in cultivated tomato with the sesquiterpene biosynthetic pathway from a wild relative. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences., pp.109(49), 20124–20129.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1208756109..>

Boiça Júnior, A.L., Campos, Z.R, Lourenção, A.L.,Campos, A.R., 2007. ADULT ATTRACTIVENESS AND OVIPOSITION PREFERENCE OF *Bemisia tabaci* (GENN.) (Homoptera: Aleyrodidae) B-BIOTYPE IN COTTON GENOTYPES. *Sci. Agric.*, 64(2), pp.p.147-151.

Broekgaarden C, Snoeren TAL, Dicke M & Vosman B, 2011. Exploiting natural variation to identify insect-resistance genes. *Plant Biotechnology Journal*, pp.9: 819–825.
<https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00635.x..>

Bruce, T., 2010. Tackling the threat to food security caused by crop pests in the new millennium. *Food Sec*, pp.2: 133–141. <https://doi.org/10.1007/s12571-010-0061-8..>

Butter, N. S., and B. K. Vir, 1989. Morphological basis of resistance in cotton to the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytoparasitica* , pp.17: 251–261.

Byrne and Miller, 1990. Carbohydrate and amino acid composition of phloem sap and honeydew produced by *Bemisia tabaci*. *J Insect Physiol*, pp.36(6):433–439.
[https://doi.org/10.1016/0022-1910\(90\)90061-J](https://doi.org/10.1016/0022-1910(90)90061-J).

De Ponti, O. M. B., Pet, G., & and Hogenboom, N. G., 1975. Resistance to the glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* westw.) in tomato (*Lycopersicon esculentum*). pp.24, 645–649.

Elsen, van den O. den F., Lucatti, A. F., van Heusden, S., Broekgaarden, C., Mumm, R., Dicke, M., & Vosman, B., 2016. Quantitative resistance against *Bemisia tabaci* in *Solanum pennellii*: Genetics and metabolomics. *ournal of Integrative Plant Biology.*, pp.58(4), 397–412. <https://doi.org/10.1111/jipb.12449>.

Fancelli, M., and J.D. Vendramim, 2002. Development of *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) biotype on *Lycopersicon* spp. genotypes. *Scientia Agricola*, pp.59(4), 665–669.
<https://doi.org/10.1590/S0103-90162002000400007>.

Fancelli, M., Vendramim, J. D., Lourenção, A. L., & Dias, C. T. S., 2003. Atratividade e preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em genótipos de tomateiro. *Neotropical Entomology*, pp.32(2), 319–328.
<https://doi.org/10.1590/S1519-566X2003000200019>.

Flint, H. and Parks, N., 1990. Infestation of germplasm lines and cultivars of cotton in Arizona by whitefly nymphs (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Entomological Science*, 25, pp.223-29.

Gill, R.J. and Brown, J.K., 2010. Systematics of *Bemisia* and *Bemisia* Relatives: Can Molecular Techniques Solve the *Bemisia tabaci* Complex Conundrum – A Taxonomist’s Viewpoint. *Bionomics and Management of a Global Pest*, pp.5-29.

Heinz KM, Zalom FG, 1995. Variation in trichome-based resistance to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition on tomato. *J Econ Entomol* , pp.88:1494–1502.

Inbar, M. and Gerling, D., 2008. Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. *Annu Rev Entomol* , pp.53: 431–448.

Jindal, V., G.S. Dhaliwal, and A.K. Dhawan, 2008. Mechanisms of resistance in cotton to whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae): Antibiosis. *International Journal of Tropical Insect Science*, pp.27:216–222. doi:10.1017/S1742758407849290.

Kang, S., 2012. One-step identification of B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* based on intron variation of carboxylesterase. *Asia Pac. Entomol.*, pp. 2, J. doi:10.1016/j.aspen.2012.02.003.

Liedl, B. E., Lawson, D. M., White, K. K., Shapiro, J. A., Cohen, D. E., Carson, W. G., Mutschler, M. A., 1995. Acylsugars of wild tomato *Lycopersicon pennellii* alters settling and reduces oviposition of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, pp.88, 742–748.

Maliepaard, C., N. Je Bas, S. Van Heusden, J. Kos, G. Pet, R. Verkerk, R. Vrieling, P. Zabel, and P. Lindhout, 1995. Mapping of QTLs for glandular trichome densities and *Trialeurodes vaporariorum* (greenhouse whitefly) resistance in an F2 from *Lycopersicon esculentum* · *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. *Heredity*, pp.75:425– 433.

Maruthi, M. N., Shankarappa, K. S., Sriharsha, Rangaswamy, K. T., Aswathanarayana, D. S., Prameela, H. A., 2008. Development of tomato hybrids resistant to tomato leaf curl virus disease in South India. *Euphytica.*, pp.164(2), 531–539. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9750-1>.

McAuslane, H.J., F.A. Johnson, D.L. Colvin, and B. Sojack, 1995. Influence of foliar pubescence on abundance and parasitism of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on soybean and peanut. *Environmental Entomology*, pp.24:1135-1143.

McAuslane, H.J., 1996. Influence of leaf pubescence on ovipositional preference of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on soybean. *Environ Entomol*, pp.25:834–841.

Morales, F. J., and Jones, P. G. , 2004. The ecology and epidemiology of whitefly-transmitted viruses in Latin America. *Virus Res.* , pp.100:57-65.

Morales, J.M., 2006. Tropical Whitefly IPM Project. *ADVANCES IN VIRUS RESEARCH*, 69(DOI: 10.1016/S0065-3527(06)69006-4), pp.249- 311..

Moriones and Nava-Castillo, 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research*, 71, pp.123–34.

Muigai, S.G., D.J. Schuster, J.C. Snyder, J.W. Scott, M.J. Bassett, and H.J. McAuslane, 2002. Mechanisms of resistance in *Lycopersicon* germplasm to *Bemisia argentifolii*

(Homoptera: Aleyrodidae). *Phytoparasitica*, pp.30:347–360.
<https://doi.org/10.1007/BF02979682>.

Muigai, S.G., M.J. Bassett, D.J. Schuster, and J.W. Scott, 2003. Greenhouse and field screening of wild *Lycopersicon* germplasm for resistance to the whitefly *Bemisia argentifolii*. *Phytoparasitica*, pp.31(1), 27–38. <https://doi.org/10.1007/BF02979764>.

Neiva, I.P.; de Andrade Júnior, Valter; Maluf, Wilson Roberto; Oliveira, Celso Mattes; Maciel, Gabriel Mascarenhas, 2013. Role of allelochemicals and trichome density in the resistance of tomato to whitefly. *Ciencia e Agrotecnologia*, Lavras, pp.v. 37, n. 1, p. 61-67.

Nombela, G., Beitia, F., and Muñoz, M., 2000. Variation in tomato host response to *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in relation to acyl sugar content and presence of the nematode and potato aphid resistance gene Mi.. *Bulletin of Entomological Research*, pp.90(2):161-167. <https://doi.org/10.1017/S0007485300000274>.

Nombela, G., Williamson, V. M., & Muñoz, M, 2003. The Root-Knot Nematode Resistance Gene Mi-1.2 of Tomato Is Responsible for Resistance Against the Whitefly *Bemisia tabaci*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, pp.6(7), 645–649. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.7.645>.

Oliveira, M.R.V.; Henneberry, T.J.; Anderson, P, 2001. History, current status and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, pp.v.20, p.709-723. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00108-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00108-9).

Oriani, M. A., & Vendramim, J. D, 2010. Influence of trichomes on attractiveness and ovipositional preference of *Bemisia tabaci* (Genn.) B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) on tomato genotypes. *Neotropical Entomology*, pp.39(6), 1002–1007.

Oriani, M. A., Vendramim, J. D., & Jensen, C., 2011. Biology of *Bemisia tabaci* (Genn.) B biotype (Hemiptera , Aleyrodidae) on tomato genotypes. *Sci. Agric.*, pp.v.68, n.1, p.37-41.

Painter, R.H., 1951. Insect resistance in crop plants. In Painter, R. *Insect resistance in crop plants*. New York: The Mc Millan Co. p.151.

Palumbo JE, Horowitz AR, Prabhaker N, 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Prot*, pp.20:739–765. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00117-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00117-X).

PUTHOFF, D. P., HOLZER, F. M., PERRING, T. M. & WALLING, L. L., 2010. Tomato pathogenesis-related protein genes are expressed in response to *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* biotype B feeding. *Journal of Chemical Ecology*, pp.36, 1271-1285. <https://doi.org/10.1007/s10886-010-9868-1>.

Rakha, M., Zekeya, N., Sevgan, S., Musembi, M., Ramasamy, S., & Hanson, P., 2017. Screening recently identified whitefly/spider mite-resistant wild tomato accessions for

resistance to *Tuta absoluta*. *Plant Breeding*, pp.136(4), 562–568. <https://doi.org/10.1111/pbr.12503>.

Rodríguez-López, M. J., Garzo, E., Bonani, J. P., Fernández-Muñoz, R., Moriones, E., & Fereres, A., 2012. Acylsucrose-producing tomato plants forces *Bemisia tabaci* to shift its preferred settling and feeding site. *PLOS ONE*, pp. 7(3): e33064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033064>.

Schuster, D. J., Stansly, P. A., and Polston, J. A., 1996. Expressions of plant damage by *Bemisia*. eds. *Intercept Ltd., Andover, Hants, U.K*, pp.153-65.

Sippell, D.W., Bindra, O.S. and Khalifa, H., 1987. Resistance to whitefly (*Bemisia tabaci*) in cotton (*Gossypium hirsutum*) in the Sudan. *Crop Protection*, pp.6(3):171–178.

Snyder JC, Simmons AM, Thacker RR, 1998. Attractancy and ovipositional response of adult *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) to type IV trichome density on leaves of *Lycopersicon hirsutum* grown in three day-length regimes. *J Entomol Sci* 33(3):270–281, pp.33(3):270–281.

Taylor, A.L., 1967. Introduction to research on plant nematology: an FAO guide to the study and control of the plant-parasitic nematodes. *Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations*, p.133p.

Teuber, Rupert, Gibbs and Taggard, 1996. Breeding resistant alfalfa holds promise for silverleaf whitefly management. *CALIFORNIA AGRICULTURE*, pp.25-29.

Toscano LC, Boica JAL, Maruyama WI, 2002. Nonpreference of whitefly for oviposition in tomato genotypes. *Scientia Agricola*, pp.59(4):677–681. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162002000400009>.

Van Lenteren JC, van Roermund HJW, Suetterlin S, 1996. Biological control of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) with the parasitoid *Encarsia formosa*: How does it work? *Biological Control*, pp.6(1), 1–10. <https://doi.org/10.1006/bcon.1996.0001>.

van Lenteren, J.C. & Noldus, L.P.J.J., 1990. Whitefly-Plant relationships: Behavioural and ecological aspects. *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management* (ed. by D. Gerling). *Intercept Ltd, U.K.*, pp.47–89.

Vassiliou, V., M. Emmanouilidou, A. Perrakis, E. Morou, J. Vontas, A. Tsagkarakou, and E. Roidakis., 2011. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* from Cyprus. *Insect Science*, pp.18:30–39. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2010.01387.x>.

Vidal C, Osborne LS, Lacey LA, Fargues J., 1998. Effect of host plant on the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for controlling the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouses. *Biological Control*, pp.12(3), 191–199. <https://doi.org/10.1006/bcon.1998.0625>.

Walker, G.P.&T.M.P., 1994. Feeding and oviposition behavior of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) interpreted from AC electronic feeding monitor waveforms. *Annals of the Entomological Society of America*, pp.87: 363-374.

WALLING, L.L., 2008. Avoiding effective defenses: Strategies employed by phloem-feeding insects. *Plant Physiology*, pp.146(3), 859–866. <https://doi.org/10.1104/pp.107.113142>..

WALTERS, D.R., 2010 b. Why Do Plants Need Defenses? *Plant Defense*. Wiley-Blackwell..

Zarate, S. I., Kempema, L. A. & Walling, L. L., 2006. Silverleaf whitefly induces Salicylic acid defenses and suppresses effectual Jasmonic acid defenses. *Plant Physiology*, pp.143, 866-875. <https://doi.org/10.1104/pp.106.090035>.

RESPUESTA PRODUCTIVA, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y CORTES PRIMARIOS DE OVINOS DE PELO FINALIZADOS CON TANINOS

Rojas Román Luis Antonio¹, Castro Pérez Beatriz Isabel¹, Plascencia Jorquera Alejandro² Alfredo Estrada Angulo¹ Germán Contreras Pérez¹ Francisco Gerardo Ríos¹

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa larr.mvz@gmail.com, ² Universidad Autónoma de Baja California

RESUMEN: Se utilizaron 40 corderos machos (31.53 ± 3.8 kg de peso vivo) para llevar a cabo una prueba de respuesta productiva durante 70 días, los tratamientos consistieron en la dieta convencional de finalización suplementados con 0, 2, 4 y 6 g de extracto de taninos/kg de MS. El extracto de taninos contenía mínimo 70% de pureza, en relación de 50:50 % de taninos condensados y taninos hidrolizables. Al finalizar la prueba, posteriormente al sacrificio se evaluaron respuesta productiva y las características de la canal. Para determinar el rendimiento en cortes primarios, se dividió la canal en dos medias canales, seleccionando la mitad izquierda disponible para la obtención de los cortes primarios; con base al lineamiento establecido por Institutional Meat Purchase Specifications (IMPS) aprobado por United States Department of Agriculture (USDA) para carne fresca de cordero (IMPS, 1996). A los resultados se les aplicó análisis de varianza para un diseño de bloques completos al azar (Martínez, 1988). La suplementación con taninos no mostró efecto significativo en características de la canal ($P \geq 0.05$) ni en la proporción de cortes primarios ($P \geq 0.05$). Se concluye que la suplementación con taninos en ovinos con dietas de finalización no mejora la respuesta productiva, las características de la canal ni la proporción de cortes primarios cuando es administrado durante periodos largos de engorda.

Palabras clave: Corderos, taninos, finalización, canal, cortes primarios.

ABSTRACT: Forty male lambs (31.53 ± 3.8 kg initial LW) were used in a 70 d feedlot finishing trial. Dietary treatment consisted of a conventional corn-based finishing diet supplemented with 0, 2, 4 or 6 g tannin extract/kg dietary dry matter. The tannin extract (TAN) contained a minimum of 70% tannin, comprised of a 50:50 blend of both condensed and hydrolyzable forms. At the end of the test, after the sacrifice, the characteristics of the carcass, performance, were evaluated. To determine the yield in primary cuts, the channel was divided into two half channels, selecting the left half available for obtaining the primary cuts; based on the guidelines established by Institutional Meat Purchase Specifications (IMPS) approved by the United States Department of Agriculture (USDA) for fresh lamb meat (IMPS, 1996). Variance analysis was applied to the results for a randomized complete block design (Martínez, 1988). Supplemental TAN effects on performance, carcass characteristics were not appreciable ($P \geq 0.05$) nor in the proportion of primary cuts ($P \geq 0.05$). There were no effects of treatments on carcass characteristics. It is concluded that long-term supplementation of tannins may not enhance performance, carcass characteristics or primary cuts in finishing lambs.

Keywords: Lambs tannin finishing, carcass, primary cuts.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales metas del sector de producción de carne es incrementar la eficiencia en las etapas finales de la engorda. La alimentación en esta etapa se basa principalmente en energía y proteína, sin embargo son de alto costo, y aunado a esto la degradabilidad de la proteína de calidad en rumen es rápida y no permite que llegue a intestino, en donde es absorbida y utilizable por el animal. Se han buscado alternativas de protección para esta proteína con el objetivo de evitar la degradación de las proteínas de alta calidad, conllevando una reducción en la producción de amonio en el rumen (Ayoade et al, 1982). El uso de estas técnicas, en comparación con las fuentes convencionales de proteína, incrementa el suministro de aminoácidos sin incrementar la producción de amonio, resultando en un mejor desempeño del animal (Kaufman y Luppig, 1982). El uso de TANINOS ha mostrado ventajas interesantes, se ha sugerido que los taninos no reducen el flujo de proteína microbiana al intestino, y esto puede ser una ventaja, ya que protege la proteína de la dieta de la digestión en el rumen y aumenta así el suministro total de proteínas de absorción por lo tanto han incrementado la eficiencia y mejorado las características de la canal en bovinos, Aunque la calidad y el grado de rendimiento son factores primarios que se consideran para asignar valor a la canal de ovinos, algunas otras mediciones pueden ser llevadas a cabo para definir la cantidad y proporción de masa muscular con base en el peso de la canal; entre estas mediciones se incluyen al peso de la grasa renal y pélvica y otras medidas de regiones corporales como el espesor de la grasa dorsal, la circunferencia de la pierna, el área del ojo de la costilla y el peso de los cortes primarios (Schilling, 2005) En México, existen nichos de mercado identificados con la comercialización de carne de ovino en cortes primarios y secundarios para abastecer a mercados muy específicos. Para cumplir con los estándares de calidad que les exige este tipo de mercados, es necesario realizar evaluaciones de calidad de la carne, comparar entre razas y sistemas de alimentación para conocer al fenotipo que produce las mejores canales, con los mejores rendimientos y buena calidad de carne (Ramírez et al., 2007). Existen diferentes formas de aprovechar la canal en cortes y esto dependerá del mercado al que se busca llegar; por ejemplo, en México el método más utilizado de despique es el que se utiliza para la preparación de barbacoa; sin embargo en países como Uruguay donde la forma más común de consumo de cordero son los asados, el método de corte tendrá como finalidad la obtención de chuletas de un grosor que facilite su preparación en la mesa (Gómez, 2007). Para efectos prácticos, se toman de referencia los cortes más comunes en el mercado internacional y con mayor demanda en nuestro país, los cuales se consumen en nichos muy específicos del mercado y tienen características muy definidas; de manera general los cortes se pueden dividir en dos grupos: primarios y secundarios; los primarios se obtienen de cortes sencillos hechos con sierra de carnicería y en los que la canal se divide en seis porciones; en los segundos se parte de los cortes primarios y se complementan con técnicas más complejas, como el deshuesado. En trabajos de investigación los cortes de interés son los primarios: Cuello, Costillar, Falda, Pecho, Paleta y Pierna (Gómez, 2007). La adición de taninos a dietas de finalización para rumiantes mejora la respuesta en el comportamiento productivo (ganancia y eficiencia alimenticia), la retención de energía y las características de la

canal, Sin embargo en ovinos existe información limitada y no se han determinado con precisión los requerimientos de éste aditivo en la etapa de finalización.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La búsqueda de sistemas de producción competitivos desde el punto de vista de la eficiencia productiva se hace cada vez más necesaria. México cuenta con diversos sistemas de producción, tal es el caso de sistema extensivo, semi-intenso y el intensivo; siendo este último el que más costos genera, esto debido al sistema de alimentación. Dentro los ingredientes más utilizados para la engorda están los energéticos y proteicos, estos últimos son de alto valor económico. La rápida y extensiva degradación de proteínas de alto valor en el rumen ha llevado a la investigación para desarrollar el concepto de protección proteica de la degradación ruminal, con el principal objetivo de incrementar el suministro de aminoácidos esenciales al animal en producción y al mismo tiempo reducir las pérdidas de nitrógeno en forma de urea en la orina y esto se vuelve pérdida de energía del animal y contaminación al medio ambiente. Por lo anterior, es necesario realizar investigaciones sobre uso de aditivos alimenticios protegidos y que regulen el crecimiento y modifiquen la composición de la canal y que sean generalmente reconocidos como seguros.

HIPOTESIS

La adición de taninos a ovinos alimentados con dietas de finalización mejora las características de canal y la proporción de cortes primarios.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el uso de taninos como potencial aditivo para dietas de finalización destinadas a rumiantes.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Comparar en corderos en etapa de finalización la eficacia de la suplementación con distintas dosis de taninos, utilizando como referencia su efecto sobre respuesta productiva, las características de la canal, y rendimiento al corte.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la “Unidad Experimental para Engorda de Pequeños Rumiantes”, y en el Laboratorio de Análisis de Alimentos, en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa; así como también en el rastro municipal de Culiacán Sinaloa ubicado en la sindicatura de Costa Rica, Sinaloa. Se utilizaran 40 borregos de pelo machos enteros cruzados de las razas Pelibuey x Katahdin, $\frac{3}{4}$ Katahdin y $\frac{1}{4}$ Pelibuey, con un

peso vivo promedio de 31.53 Kg para llevar a cabo una prueba de respuesta productiva con duración de 70 días para determinar el efecto de la adición de distintos niveles de taninos sobre la respuesta productiva, las características de la canal y rendimiento al corte. Previo a iniciar el experimento los animales fueron sometidos a un periodo de adaptación con duración de 15 días durante este periodo fueron alimentados con una dieta basal, con 15.96% PC y 1.97 ENm Mcal/kg, constituida de maíz quebrado: 56%, heno se Sudan: 10%, pasta de soya: 8%, DDGS: 15.5%, agromix ovinos^{MR} 2.5%, melaza de caña: 8%. Se ajustaron comederos y se registró el consumo y comportamiento de los animales. Con base a su peso y de acuerdo a un diseño en bloques completos al azar, los animales se dividieron de la siguiente manera: en 20 grupos de dos borregos cada uno y alojados en una de 20 corraletas experimentales (2x 3m), con piso de tierra, provistos con comederos con 5 bocas con separadores y con espacio de 20cm entre cada boca, y bebederos de plástico de llenado manual y completamente sombreados. Diariamente se midió el consumo de agua mediante una regleta graduada (aforada en litros) y la temperatura ambiental en grados centígrados. A los 40 animales, se les fue asignada al azar a consumir a libre acceso una de las 4 dietas experimentales durante 70 días (T1: dieta basal + 0 mg/kg de MS, T2: dieta basal + 20 mg/kg de MS, T3: dieta basal + 40mg/kg de MS, T4: dieta basal + 60mg/kg de MS.). El alimento se ofreció en dos horarios, 8:00 y 14:30 h en cantidad equivalente al 3.0 % de su peso vivo inicial, dicha cantidad se fue ajustada gradualmente con base al sobrante o faltante de alimento existente al día siguiente de ser servido. El ajuste se realizó en una proporción de 5 % del consumo del día anterior, y se ofrecerá el alimento en un 40:60 por la mañana y tarde respectivamente. Se recolectaron diariamente muestras de alimento y se depositaron en un recipiente de plástico debidamente rotulado, para formar una muestra representativa a la cual se le determinó el contenido de materia seca. (AOAC, 2000). Para determinar la ganancia diaria de peso promedio por periodo, los ovinos se pesaron al inicio del experimento y posteriormente a los días 28, 56 y 75. Al finalizar la prueba de alimentación, los ovinos se trasladaron a la planta de sacrificio; en los corrales de espera permanecieron 16 horas sin acceso a alimento, solo con acceso libre al agua, como lo indica la NOM 009 ZOO 1995, que establece que los animales deberán permanecer en los corrales de descanso durante un periodo de 24 - 72 horas; este lapso se podrá disminuir a la mitad cuando las distancias sean menor a 50 km, además, los animales deberán tener agua en abundancia y tener acceso a alimento cuando el periodo de descanso sea mayor a 24 horas. Previo al sacrificio se registró el peso vivo individual; durante el proceso se registró el peso individual de la canal caliente (sin vísceras y sin cabeza); las canales se conservaron en cuarto frío (2 °C) durante 24 horas, transcurrido el tiempo de refrigeración, se registró el peso de la canal fría; posteriormente se evaluaron en canal las siguientes características: rendimiento de la canal en %, área del ojo de la costilla en cm², mediante una plantilla oficial del servicio de clasificación de canales de los Estados Unidos de América (USDA), espesor de la grasa dorsal en y espesor de la pared abdominal en cm, medido a la altura de la 11 y 12^a costilla con un vernier digital, grasa de riñón y pelvis en gramos. Para determinar el rendimiento en cortes primarios, se dividió en dos medias canales, seleccionando la mitad izquierda disponible para la obtención de los cortes primarios; del cuarto anterior se obtuvieron: costillar (IMPS 204), pecho (IMPS

209), hombro (IMPS 206), brazuelo (IMPS 210), y del cuarto posterior: lomo (IMPS 231), falda (IMPS 232E) y pierna (IMPS 233), con base al lineamiento establecido por Institutional Meat Purchase Specifications (IMPS) aprobado por United States Department of Agriculture (USDA) para carne fresca de cordero (IMPS, 1996) Al sacrificio los corderos tenían 270 ± 5 d de edad, y pesaban $44.84 \text{ kg} \pm 0.59$ (EEM). El peso de cada corte fue registrado y el rendimiento de los cortes primarios se calculó como el peso de cada corte dividido entre el peso de la canal fría multiplicado por cien. A los resultados obtenidos sobre, características de la canal y los cortes primarios, al igual que al resto de las variables a medir se les aplicó análisis de varianza para un diseño de bloques completos al azar (Martínez, 1988), con 4 tratamientos y 6 réplicas (corraletas) por tratamiento; siendo el criterio de bloqueo el peso vivo inicial, fijando un nivel de α máximo de 0.05 para aceptar diferencia estadística entre los tratamientos.

Tabla 1: Composición de la dieta basal.

INGREDIENTE	% DE INCLUSIÓN
HENO DE SUDAN	10
PASTA DE SOYA	8
MAÍZ QUEBRADO	56
DDGS	15,5
MELAZA DE CAÑA	8
MINERALES	2,5
TOTAL	100
ANÁLISIS CALCULADO	
MATERIA SECA	88,15
PROTEÍNA CRUDA	15,96
ENm, Mcal/Kg	1,97
ENg Mcal/Kg	1,26

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2: Respuesta productiva de ovinos de pelo alimentados con taninos en dietas de finalización

Concepto	Nivel de Taninos (g/kg)				EEM	<i>P</i> ^a valor	
	0	2	4	6		Lineal	Cuadrático
Días de prueba	70	70	70	70			
Replicas	5	5	5	5			
Consumo de agua, L/corral							
1 a 28 días	7.24a	8.05ab	9.70b	9.96b	0.69	<0.01	0.70

28 a 70 días	8.24a	8.79ab	10.32bc	10.61c	0.84	<0.01	0.83
1 a 70 días	7.84a	8.49ab	10.07bc	10.35c	0.57	<0.01	0.72
Peso vivo (kg) ^b							
Inicial	31.77	31.35	31.34	31.68	0.23	0.77	0.12
28 días	37.91	38.21	38.50	38.59	0.68	0.46	0.88
70 días	48.34	48.03	48.30	47.87	1.24	0.88	0.96
Ganancia diaria de peso (kg)							
1 a 28 días	0.220	0.245	0.256	0.247	0.020	0.32	0.41
28 a 70 días	0.248	0.234	0.234	0.231	0.019	0.35	0.96
1 a 70 días	0.237	0.238	0.242	0.231	0.017	0.87	0.71
Consumo de Materia Seca (kg/d)							
1 to 28 días	1.066	1.128	1.127	1.161	0.061	0.33	0.82
28 to 70 días	1.306	1.284	1.299	1.274	0.070	0.81	0.98
1 to 70 días	1.210	1.222	1.231	1.229	0.061	0.82	0.91
Eficiencia alimenticia (kg/kg)							
1 a 28 días	0.206	0.218	0.227	0.213	0.007	0.31	0.08
28 a 70 días	0.191	0.183	0.179	0.174	0.005	0.05	0.80
1 a 70 días	0.196	0.196	0.197	0.189	0.004	0.28	0.37

Tabla 3: Características de la canal de ovinos de pelo alimentados con taninos en dietas de finalización.

Concepto	Nivel de Taninos (g/kg)				SEM ^b	P ^a valor	
	0	2	4	6		L	Q
Peso de canal caliente (kg)	27.77	27.77	28.26	27.30	0.66	0.75	0.49
Rendimiento de la canal caliente	57.41	57.95	58.52	56.98	0.54	0.77	0.08
Peso de canal fría (kg)	27.61	27.60	28.04	27.13	0.65	0.75	0.49
AOC (cm ²)	16.57	16.50	17.80	16.74	0.55	0.50	0.37

Grasa de cobertura (cm)	0.32	0.29	0.27	0.33	0.018	0.75	0.03
Grasa de RPC. (%)	3.30	2.65	2.96	2.57	0.35	0.25	0.70
Composición de la paleta (%)							
Musculo	60.61	61.13	60.43	60.58	0.51	0.74	0.73
Grasa	20.89	20.48	20.69	20.36	0.53	0.57	0.94
Hueso	18.50	18.29	18.88	19.06	0.77	0.52	0.81
Relación musculo grasa	2.90	2.99	2.94	2.99	0.08	0.57	0.83
Relación musculo hueso	3.30	3.40	3.27	3.19	0.16	0.52	0.57

Tabla 4: Cortes primarios en ovinos alimentados con taninos en dietas de finalización.

Concepto	Nivel de Taninos (g/kg)				SEM ^b	P ^a valor
	0	2	4	6		
Peso final	48.34	48.03	48.30	47.87	0.88	0.96
PCF	27.61	27.60	28.04	27.13	0.65	0.75
CU-ANT	5.52	5.55	5.56	5.43	63.04	0.89
PALETA	1.93	2.00	2.01	2.01	19.00	0.39
COSTILLAR	0.92	0.90	0.94	0.86	16.71	0.47
RACK IMPS	1.03	1.07	1.08	1.03	16.98	0.55
PECHO IMPS	0.52	0.52	0.52	0.49	10.89	0.63
HOMBRO	1.04	1.00	0.99	1.04	23.84	0.81
CU-POST	5.15	5.15	5.16	5.04	61.75	0.88
FALDA IMPS	0.92	0.89	0.87	0.82	23.17	0.52
LOMO IMPS	0.90	0.90	0.94	0.93	15.47	0.71
PIERNA	3.33	3.35	3.35	3.28	37.88	0.91

Durante el tiempo en que se realizó este estudio la temperatura promedio fue 29.3 y la humedad promedio 38.8 basado en RNC (2007), el consumo de agua esperado es de 7.82 L/d, donde consumo de agua L/d = (1.25 + 0.18 × temperatura promedio) × CMS, esta estimación es altamente significativa en 99% lo que está de acuerdo con la ingesta de agua de los corderos no suplementados, en contraste la ingesta de agua de los corderos suplementados con taninos fue para el tratamiento 2, 9 % mayor, para el 3, 29%

y para el tratamiento 4, 32% con respecto al testigo. Las bases para explicar este efecto no son lo suficientemente claras, Salem et al. (2004) observo en corderos alimentados con alfalfa dosificando la alfalfa de tal manera que asegurara una dosis de taninos de 0.9g/kg El aumento de la ingesta de agua podría estar en respuesta a los efectos del tanino sobre el sabor o la palatabilidad (Landau et al., 2000).

Para eficiencia alimenticia se observa diferencia estadística ($P=.05$) en el periodo de 28 a 70 días, esto podría ser explicado debido a que los corderos en crecimiento tienen mayor necesidad de proteínas que los ovinos adultos. Las ausencias de los efectos taninos sobre las características de la canal son consistentes con los informes anteriores. Del mismo modo, los niveles de taninos suplementarios (0, 2,1 o 4,2 g / kg de taninos condensados) no afectaron las características de la canal de los novillos cruzados después de un período de finalización de 150 días (Tabke, 2014), la suplementación con 20.8 g de tanino de castaño / kg de MS no influyó en las características de las canales de corderos en finalización (Frutos et al., 2004). Sin embargo, Mezzomo et al. (2016) observaron reducción de la grasa de canal y aumento de la deposición muscular en toros Nelore alimentados con una dieta de finalización que contenía 7,5% de una harina de soja tratada con taninos lo que coincide con los resultados en este experimento, a excepción del aumento en el tratamiento 4 que fue similar al comportamiento del testigo. Con base en el peso de la media canal izquierda, el corte primario con mayor porcentaje fue la pierna con (24.12 %), seguido de la paleta (14.41 %), rack (7.61), lomo (6.65%), costillar (6.54 %), falda (6.34 %), pecho (3.73%) y hombro (1.02 %). Como se puede observar en el cuadro 3 la inclusión de diferentes niveles de taninos no genera ningún efecto significativo sobre el PCF, del mismo modo los cortes primarios no se ven afectados. Sin embargo, las proporciones de cortes primarios observados son similares a otros informes en los cuales utilizaron dietas y razas similares al presente experimento (Macías-Cruz et al, 2010; Estrada-Angulo et al., 2012). En el presente estudio, es posible apreciar que la pierna mostró la mayor proporción en la canal fría (23.91 a 24.28 %) con un peso vivo promedio al sacrificio de 48.14 kg, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Macías-Cruz et al. (2010), con borregos Katahdin x Pelibuey alimentados con una dieta con valores similares de PC (16.4) y EM (2.7 Mcal/kg). En contraste Ríos-Rincón et al. (2012), observaron 27.93% de rendimiento de la pierna en borregos de la misma raza y alimentados con una dieta similar, asimismo Coronel-Burgos et al. (2017), informan rendimientos en la pierna superiores al 30% con borregos de la misma raza, pero con un peso al sacrificio (55 kg) mayor. Al igual que la pierna el lomo es uno de los cortes con mayor valor, ya que se considera como un indicador de la musculatura de la canal. En el presente estudio la proporción de lomo (6.65 %) no mostro diferencias con los diferentes niveles de inclusión de taninos. Sin embargo, estos resultados son inferiores a los reportados por Ríos-Rincón et al. (2012) y Coronel-Burgos et al. (2017), (8.14 y 7.76 % respectivamente) en animales de la misma raza. La variación en los rendimientos de cortes primarios puede explicarse debido al peso al sacrificio de los animales, al porcentaje de energía y proteína de la dieta, así como al tipo de aditivos empleados en la dita. Por esta razón la cantidad y proporción de cortes primarios con base en el peso de la canal fría, representa una herramienta fundamental para la valoración de la mejora genética, la evaluación de un aditivo o de una dieta en la respuesta productiva de los

corderos (De Lucas y Arbiza, 2005), y mostrar así, el potencial de rendimiento en tejidos comestibles.

CONCLUSIONES

Se concluye que bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, la suplementación con taninos en ovinos con dietas de finalización no mejora la respuesta productiva, ni las características de la canal, ni el rendimiento de los cortes primarios en toda la fase de la engorda., sin embargo la literatura señala que adicionar taninos mejora la utilización de la proteína, en el presente trabajo no hubo efectos, se sugiere realizar más trabajos al respecto.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis (12 th ed.) Association of Official Analytical Chemistries. Washington. DC. USA
<https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>
- Ayoade JO, Akintola FO 1982. A Note on Some Characteristics of Rain Storms in Ibadan. *Weather*, 37(2): 56-58
DOI: 10.1002/j.1477-8696.1982.tb03551.x
- Coronel-Burgos, F.; Plascencia, A., Castro-Pérez, B.I., Contreras-Pérez, G., Barreras, A. y Estrada-Angulo, A. 2017. Influencia de la sustitución parcial del maíz y de la pasta de soja por zeolita en ovinos en etapa de finalización: Características de la canal, composición tisular y masa visceral. *Arch. Zootec.* 66 (254): AA-BB. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.21071/az.v66i254.2325>
- De Lucas T. J. y Arbiza A. S. 2005, Situación actual y perspectivas de la producción de carne ovina. Sexta exposición nacional Dorper. La revista del borrego, N° 32, Enero-Febrero. <http://www.borrego.com.mx/archivo/n32/f32produc.php>.
- Estrada, A.; Dávila, H.; Herrera, R. S.; Robles, J.C.; La O, O.; Castro, B. I.; Portillo, J.J.; Ríos, F.G. y Contreras, G. 2012. Características de la canal y rendimiento de los cortes primarios de corderos alimentados con sorgo escobero (*Sorghum bicolor* var. *Technicum*, jav). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 46, núm. 2, 2012, pp. 145-150.
<https://www.redalyc.org/pdf/1930/193024447005.pdf>
- Frutos, P., Raso, M., Hervás, G., Mantecón, A.R., Pérez, V., Giráldez, F.J., 2004. Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is included in the diet of finishing lambs? *Anim. Res.* 53, 127-136.
DOI: 10.1051/animres:2004001
- IMPS. Institutional Meat Purchase Specifications. 1996. For Fresh Lamb and Mutton Serie 200. United States Department of Agriculture. Washington, D.C.
<https://amazingribs.com/files/media/imps500.pdf>
- Kaufman, W., Luppig, W. 1982. Protected Proteins and protected amino acids for ruminants. (Protein contribution of feedstuffs for ruminants. Butterworths, London. UK: Eds: Miller, E.L, Pike, I.H and Vanes, A.J.H.) 36-68.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-408-11151-5.50008-6> Get rights and content

- Landau, S., Silanikove, N., Nitsan, Z., Barkai, D., Baram, H., Provenza, F.D., Perevolotsky, A., 2000. Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed intake in heifers. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 69,199-213.
[https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00125-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00125-8)Get rights and content
- Macías, C. U., Avendaño, R. L., Vicente, P. R., Álvarez, V. F. D., Correa, C. A., González, R. H., Soto, N. A., Mellado, M. 2016. Crecimiento y características de la canal de corderos finalizados con clorhidrato de zilpaterol en pastoreo de alfalfa. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, vol. 7, núm. 2, abril-junio, 2016, pp. 243-252 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Morelos, México.
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v7n2/2448-6698-rmcp-7-02-00243.pdf>
- Martínez, G. A. 1988. *Diseños Experimentales: Métodos y Elementos de Teoría*. Edit. Trillas. D. F., México.
- Mezzomo, R., Paulino, P.V.R., Detmann, E., Valadares, S.C., Paulino, M.F., Monnerat, J.P.I.S., Duarte, M.S., Silva, L.H.P., Moura, L.S., 2011. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.04.004>
- Ríos-Rincón, F. G, Bernal-Barragán, H., Cerrillo-Soto, M. A., Estrada-Angulo, A., Juárez-Reyes, A. S., Obregón, J. F. y Portillo-Loera, J. J. 2012. Características de la canal, rendimiento en cortes primarios y composición tisular de corderos Katahdin x Pelibuey alimentados con garbanzo de desecho. *Rev Mex Cienc Pecu* 2012;3(3):357-371.
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v3n3/v3n3a7.pdf>
- Salem, A.Z.M., González, J.S., López, S., Ranilla, M.J., 2004. In:Salem, B.H., Nefzaoui, A., Morand-Fehr, P. (Eds.), *Feeding behaviour patterns and water intake in s heep and goats fed alfalfa hay treated with quebracho*.
<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=4600031>InNutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates. CIHEAM/ Zaragoza, pp 215-219.
- Tabke, M.C., 2014. Effects of tannic acid (Bypro®) on growth performance, carcass characteristics, apparent total tract digestibility, fecal nitrogen volatilization, and meat lipid oxidation of steers fed steam-flaked corn based finishing diets. MSc. Thesis.Texas Tech University. Lubbock, TX. USA.
<https://ttu-ir.tdl.org/handle/2346/60584>

HISTORIA DE VIDA DEL Bagre panamensis (SILURIFORMES: ARIIDAE) DEL SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA

Juan Antonio Maldonado Coyac¹, Jorge Saúl Ramírez Pérez², Rebeca Sánchez Cárdenas², Luis Antonio Salcido Guevara², Guillermo Rodríguez Domínguez², Dana Isela Arizmendi Rodríguez³.

¹Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, ²Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa (FACIMAR, UAS); juan.maldonado.facimar@uas.edu.mx. ³Instituto Nacional de Pesca y Acuacultura, CRIAP-Guaymas.

RESUMEN

El *B. panamensis* es una de las 11 especies de bagre marino que habitan en el Océano Pacífico de México. Un problema grave que afecta a esta especie es la extracción de juveniles y adultos durante el período reproductivo. Además de esto, la pesquería no tiene regulación ni manejo. Por lo tanto, existe la hipótesis de que la pesquería está teniendo un efecto negativo en la población de *B. panamensis*. Teniendo en cuenta esto, es necesario evaluar los rasgos de la historia de vida del *B. panamensis* del sureste del Golfo de California. La edad se determinó mediante la lectura de anillos de crecimiento en otolitos de lapilli. El crecimiento se calculó a partir de cuatro modelos candidatos y el mejor modelo se seleccionó mediante inferencia de multimodelo. Los ovarios y los testículos se procesaron histológicamente, para una descripción más detallada. Las mediciones de los otolitos y la longitud total de los peces mostraron que los otolitos eran viables para determinar la edad y el crecimiento. Los otolitos de Lapilli forman dos anillos de crecimiento por año, uno en verano y otro en invierno. Encontramos edades de uno a 14 años, por lo que la primera hipótesis fue rechazada. El mejor modelo que describió el crecimiento fue el de Von Bertalanffy y el modelo de Schnute y Richardson. El índice gonadosomático indicó un ciclo reproductivo anual. Las hembras adultas mostraron diferencias en las aletas pélvicas. Se registraron evidencias de incubación en un macho adulto. La población no presenta segregación sexual.

Palabras clave: Otolito, edad, crecimiento, reproducción, incubación bucal.

ABSTRACT

Sea catfish *B. panamensis* is one of the 11 species of marine catfish that inhabit the Pacific Ocean of Mexico. A serious problem that affects this species is the extraction of juveniles and adults during reproductive period. In addition to this, the fishery does not have regulation or management. Therefore, there is a hypothesis that the fishery is having a negative effect on the population of *B. panamensis*. Given this, there is a need to evaluate traits of the life history of the chihuil *B. panamensis* from the southeastern Gulf of California. Age was determined by reading growth rings on lapilli otoliths. Growth was calculated from four candidate models and the best model was selected through multi-model inference. The ovaries and testes were processed histologically, for further

description. Otolith measurements and total fish length showed that otoliths were viable to determine age and growth. Lapilli otoliths shape two growth rings per year, one in summer and other in winter. We found ages of one to 14 years, so the first hypothesis was rejected. The best model described the growth was that of Von Bertalanffy and the model of Schnute and Richardson. Gonadosomatic index indicated an annual reproductive cycle. The adult females showed differences in the pelvic fins. Evidence of incubation was recorded in an adult male. The population does not present sexual segregation.

Keywords: otolith, age, growth, reproduction, mouthbrooding.

INTRODUCCIÓN

Los bagres Siluriformes son unos de peces más diversos en el ambiente acuático, dado que este orden cuenta con un total de 39 familias que incluyen al menos 6592 especies (Nelson *et al.*, 2016). De las cuales, solo dos familias (Ariidae y Plotosidae) han logrado colonizar con éxito el ambiente marino y estuario (Kailola y Bussing, 1995; Nelson *et al.*, 2016). Once de las 25 especies de bagres marinos Ariidae que habitan en el Pacífico oriental tropical se localizan en el Pacífico mexicano (Allen y Robertson, 1994; Robertson y Allen, 2015). Entre las cuales se encuentra la especie objetivo del presente estudio, el chihuil bandera (*Bagre panamensis* Gill, 1863) que se distribuye desde las costas sureñas de California en EE.UU., Baja California, Baja California Sur, Golfo de California, México, hasta las costas de Perú (Robertson y Allen, 2015).

En el sureste del Golfo de California, la pesquería industrial de camarón captura bagres marinos en etapas juveniles, por otro lado, la pesquería ribereña captura organismos adultos durante la agregación reproductiva (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1976; Amezcua *et al.*, 2006; Muro-Torres y Amezcua, 2011). Además de esto, esta pesquería no cuenta con una regulación o un manejo que permita su desempeño bajo un marco de sustentabilidad. Lo poco que se sabe es que, la única medida de manejo con que cuenta la pesquería, es el control del esfuerzo a través de permisos de pesca de escama en general (Arreguín-Sánchez y Arcos-Huitrón, 2011).

A nivel global (Reis, 1986; Tilney, 1990; Velasco y Oddone, 2004; Velasco *et al.*, 2007) y localmente (Muro-Torres, 2011; Anislado-Tolentino *et al.*, 2014), se han realizado pocos estudios sobre la edad y las tasas de crecimiento de los bagres marinos Ariidae. La mayoría de los estudios sobre Ariidae se centran en describir aspectos reproductivos (Rimmer y Merrick, 1983; Muro-Torres y Amezcua, 2011; Amezcua y Muro-Torres, 2012; Denton-Castillo, 2016).

Los rasgos de historia de vida considerados típicamente por la ciencia pesquera incluyen edad, edad de madurez, crecimiento y talla de madurez, tamaño de los huevos, fecundidad y cuidado de los padres, aunque existen otros como la alimentación y el hábitat (Bruton, 1996; Campana y Thorrold, 2001; Wootton y Smith, 2015). Evaluar cada uno de estos rasgos, nos ayuda a comprender la dinámica poblacional de una o varios recursos en particular y una vez que se obtiene tal información, se pueden generar medidas precautorias o regulatorias que sirvan de base para la administración de las pesquerías.

El conocimiento que se tiene sobre los bagres marinos y en particular sobre los estudios de edad, crecimiento y algunos aspectos reproductivos descritos por Muro-Torres (2011) para *B. panamensis*, no son suficientes para describir su historia de vida. Puesto que, las técnicas y metodologías empleadas, no han permitido describir totalmente cada uno de los parámetros de la vida de esta especie. Por ello, en el presente trabajo se exploran varias técnicas que permiten llegar más a fondo en el estudio de la edad, el crecimiento y los aspectos reproductivos de *B. panamensis*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El principal problema en el aprovechamiento del *B. panamensis*, es que se capturan organismos juveniles de manera incidental por la pesquería industrial de camarón y, por otro lado, la pesquería ribereña extrae una gran cantidad de organismos durante la temporada reproductiva, lo que representa un riesgo para la población. Aunado a esto, el *B. panamensis* presenta una historia de vida similar a la de los elasmobranquios (tiburones y rayas), los cuales han sido seriamente afectados. Al igual que los elasmobranquios, los bagres marinos y en particular el *B. panamensis* requiere de un manejo adecuado que evite el deterioro de la población. Por lo anterior, es necesario complementar, detallar y validar la información sobre la edad, el crecimiento y los aspectos reproductivos de *B. panamensis* en el sureste del Golfo de California.

HIPÓTESIS

La edad máxima del *B. panamensis* de ocho años.

La desaceleración del crecimiento de *B. panamensis* ocurre durante la temporada reproductiva.

La época de desove del chihuil bandera *B. panamensis* se lleva a cabo durante los meses de mayo, junio, julio y agosto.

El *B. panamensis* presenta dimorfismo sexual durante la época de desove.

El *B. panamensis* deja de alimentarse durante la temporada reproductiva y presenta desgaste en su condición nutricional.

El chihuil bandera *B. panamensis* no presenta segregación por sexos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar rasgos de la historia de vida del chihuil *B. panamensis* que habita en el sureste del Golfo de California.

OBJETIVOS PARTICULARES

Estimar la edad y el crecimiento.

Describir aspectos estructurales y de desarrollo del sistema reproductor.

Evaluar el ciclo reproductivo.

Describir la estrategia de incubación

Evaluar el desgaste energético en relación con el patrón de crecimiento y reproductivo.

Describir la estructura del stock.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cada semana se muestrearon 10 ejemplares de *B. panamensis* de septiembre de 2014 a noviembre de 2015. Se midieron en longitud total (Lt) y peso total (Pt). Se extrajo la gónada, el hígado y el estómago por disección abdominal y se pesó cada órgano. Las gónadas se fijaron en formaldehído al 10% para su procesamiento histológico. El sexo de cada individuo se identificó por observación directa de la gónada. También se extrajeron los pares de otolitos lapilli de la cavidad auditiva del *B. panamensis*.

Relación entre las medidas del otolito y la longitud total del pez

Se evaluó la proporcionalidad entre el crecimiento somático del pez y el otolito, a partir de la regresión lineal entre la longitud total (Lt) y las medidas del diámetro (DO), radio menor (Rm) y radio mayor (RM) del otolito *lapillus*. Las medidas fueron tomadas de las fotografías del otolito entero usando el programa Sigma Scan Pro. 5.0 (Systat Software Inc.).

Preparación de otolitos lapilli para determinar edad

Los otolitos lapilli de *B. panamensis* fueron embebidos en resina sintética y cortados transversalmente a través del núcleo, utilizando una cortadora de baja velocidad (Isomet-Buehler). Una de las dos caras fue teñida con la tinción de rojo neutro (Easey y Millner, 2008). Para después ser fotografiados a través de un microscopio estereoscópico con luz reflejada (Olympus SZX7). Los cuales fueron leídos por dos personas de manera independiente. Se determinó la precisión del conteo de marcas de crecimiento por los lectores, con el porcentaje de error promedio (PEP) y el coeficiente de variación (CV) (Beamish y Fournier, 1981).

Descripción del crecimiento individual

Los datos de longitud total y edad de *B. panamensis*, fueron utilizados para describir el crecimiento individual. El ajuste de los datos de longitud a la edad se realizó para cuatro modelos de crecimiento individual, los cuales tienden a presentar un valor asintótico de la longitud a edades avanzadas (Tabla I).

Tabla I. Modelos de crecimiento candidatos.

Von Bertalanffy	$L(t) = L_{\infty} (1 - e^{-k(t-t_0)})$
Schnute y Richardson	$L(t) = L_{\infty} (-e^{-k_2(t-t_1)})$
Gompertz	$L(t) = L_{\infty} (1 + \delta_e^{k_3 t^{\nu}})^{1/\gamma}$
Logístico	$L(t) = L_{\infty} (1 + e^{-k_4(t-t_2)})^{-1}$

Los parámetros de los modelos fueron ajustados con el criterio de máxima verosimilitud utilizando el algoritmo de Newton, (Haddon, 2001), este método de ajuste selecciona los

valores de los parámetros que maximizan la probabilidad de que las actuales observaciones hubieran ocurrido si los parámetros fueran verdaderos: $LL = -\frac{n}{2} [\ln(2\pi) + 2\ln(\hat{\sigma}) + 1]$, considerando la desviación estándar de los errores:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (L_{t_{obs}} - L_{t_{exp}})^2}{n}}$$

Selección del mejor modelo de crecimiento

La selección del mejor modelo se llevó a cabo por medio de una forma corregida AIC_c del criterio de Información de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés; Burnham y Anderson, 2002; Katsanevakis, 2006, Katsanevakis y Maravelias, 2008). El modelo con el menor valor de AIC_c (AIC_c, min) fue el seleccionado como el mejor (Burnham y Anderson, 2002).

$AIC_c = AIC + \frac{2k(k+1)}{(n-k-1)}$; $AIC = 2LL + (2k)$. Para todos los modelos se calcularon los

valores de Δ_i como la diferencias entre AIC_c: $\Delta_i = AIC_{ci} - AIC_{min}$. También, se calculó la plausibilidad de cada modelo (el peso de la evidencia a favor del modelo *i*) para fortalecer

la evaluación de cada modelo, mediante la ponderación de Akaike (*W_i*): $W_i = \frac{\exp(-\frac{1}{2}\Delta_i)}{\sum_{k=1}^4 \exp(-\frac{1}{2}\Delta_k)}$

Reproducción

Análisis del tejido gonádico

Se realizarán observaciones de las características macroscópicas de las gónadas como son la textura, tamaño, peso y coloración. Y con ello, establecer fases de desarrollo a partir de las descripciones morfocromáticas. Para lo cual, se tomará en cuenta literatura especializada para la especie, así como otros trabajos relacionados con el género o familia Ariidae.

Por otro lado, se realizará un análisis microscópico de las gónadas a partir de técnicas histológicas (Humason, 1979; Muñetón-Gómez *et al.*, 2000; Denton-Castillo, 2016). A partir de los cortes transversales de 5 μm de espesor realizados en los lóbulos gonadales (previamente fijado en formaldehído al 10%). En seguida se llevó a cabo la deshidratación del tejido, sumergiéndolo en una serie de alcohol etílico a concentración ascendente, posteriormente los tejidos fueron aclarados con xileno y se impregnaron con parafina. Los tejidos cortados fueron teñidos con la técnica Hematoxilina-Eosina (Humason, 1979; Muñetón-Gómez *et al.*, 2000; Denton-Castillo, 2016), para contrastar las diferentes estructuras celulares y tisulares. Ya concluido el proceso de tinción, el tejido se recubrió con un cubreobjetos adherido con resina acrílica (Cytoseal), para su posterior observación y conservación.

El índice gonadosomático (IGS), fue calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$IGS = \frac{PG}{PT} * 100$$

Desgaste energético

El gasto energético se evaluará a través del índice de ingesta $II = \frac{M_G}{M_E} * 100$, el índice hepatosomático $IHS = \frac{M_H}{M_E} * 100$ y el factor de condición $FC = \frac{W_t}{L_t^3} * 100$.

Dimorfismo sexual

El dimorfismo sexual, se determinará a partir de la observación de características morfológicas en placas dentarias, tamaño de la boca y en aletas pélvicas de ejemplares de *B. panamensis* durante la temporada reproductiva.

Incubación bucal

La incubación bucal de crías y huevos, se describirá a partir de muestreos directos durante la temporada reproductiva de *B. panamensis*.

Estructura del stock

La estructura de tallas, se describió para la muestra total y por machos y hembras de *B. panamensis*, mediante la distribución de frecuencias relativas. La prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para evaluar la similitud estadística entre las estructuras de tallas, mediante la formula $D_{max} = \left| \frac{F_1}{n_1} - \frac{F_2}{n_2} \right|$ (Daniel, 2002).

Proporción sexual

La composición sexual mensual se evaluó con prueba chi-cuadrada $X^2 = \sum \frac{(f_{ij} - f_j)^2}{f_j}$ (Sokal y Rohlf, 2009).

Tallas de madurez

Se estimarán la talla mínima de madurez (L_{min}), talla de primera madurez (L_m) (Froese y Binohlan, 2000) y la talla mediana del stock reproductor (L_{md}) (Somerton, 1980). Mediante la ecuación logística: $M_{95} = \frac{\alpha}{1 + b e^{cL_t}}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Relación entre la longitud total y las medidas del otolito

El análisis de la regresión lineal entre las medidas del otolito lapilli (D, RM y Rm) y la longitud total (Lt) del pez, presentaron tendencias lineales positivas (Diámetro, $R^2=0.84$; Radio mayor, $R^2=0.83$; Radio menor, $R^2=0.68$), lo que indica un alto grado de asociación entre las variables. Por lo tanto, se puede decir que dicha asociación entre variables, demuestra que los otolitos lapilli son estructuras aptas para describir la edad y el crecimiento de *B. panamensis*. Lo cual ya ha sido demostrado para otras especies de la familia Ariidae (Reis, 1986; Tilney, 1990).

Estimación de la edad

En total se leyeron 355 otolitos lapilli, de los cuales 164 fueron machos, 177 hembras y 19 indefinidos. Se logró estimar de uno hasta 14 años de edad, en organismos con tallas que oscilan entre los 13 y 49.1 cm de Lt. Los resultados obtenidos para el porcentaje de error promedio (PEP=1.4) y el coeficiente de variación (CV=2.0) fueron altos. Lo que sugiere que el conteo de marcas de crecimiento realizado por ambos lectores es confiable.

Periodicidad de la formación de marcas de crecimiento

Tanto en machos como en hembras, los bordes opacos fueron más frecuentes de enero a marzo, comenzando a aumentar en septiembre a noviembre. Por lo tanto, esta especie forma dos anillos de crecimiento por año, uno en verano y otro en invierno. Con base en este diagnóstico, se podría asignar la edad de cada individuo de *B. panamensis*. Estos resultados coinciden con lo reportado por Campana (2001), respecto a la periodicidad de formación de las bandas de crecimiento, así como lo reportado por Rodrigues-Maciel *et al.* (2018) para el bagre *Genidens genidens* de la costa de Brasil.

Por otro lado, en gran parte de los otolitos que presentaron de una a cuatro marcas de crecimiento se observó un patrón de formación de bandas opacas (BO) sencillas, dobles y triples. Este patrón de formación de bandas dobles y triples se han encontrado en otolitos lapilli de *Galeichthys feliceps* y *G. ater* en sureste de Sudáfrica (Tilney, 1990) y para el bagre *Brachyplatystoma rousseauxii* del río Madeira en Brasil (Hauser *et al.*, 2018). Estas anomalías registradas, son atribuidas al estrés ocasionado por el incremento en salinidad durante la incursión del sistema estuario hacia el océano o viceversa, ya que a menudo los peces desvían la energía del crecimiento para mantener el equilibrio homeostático que para los peces teleósteos representa entre el 20 y 50 % del presupuesto energético total (Hauser *et al.*, 2018). Otros factores como los cambios de temperatura, la falta de alimento y los procesos reproductivos, también provocan este tipo de anomalías en los otolitos (Tilney, 1990; Hauser *et al.*, 2018).

Modelación del crecimiento individual

La selección del modelo que mejor describe el crecimiento de *B. panamensis*, se evaluó a través de la teoría de la información y la selección multimodelo. Los parámetros de crecimiento obtenidos para cada uno de los modelos candidatos (Von Bertalanffy, Gompertz, Schnute y Richardson, y logístico), se muestran en la Tabla II.

Tabla II. Parámetros de crecimiento individual calculados para *B. panamensis*.

MVB	MS-		MG	ML			
	Parámetros	R			Parámetros	Parámetros	
L_{∞}	45.3	L_{∞}	50.0	L_{∞}	44.1	L_{∞}	43.3
K	0.28	δ	-0.01	λ	0.61	k_4	0.51
t_0	-0.41	k_2	1.70	k_3	0.39	t_3	2.07
LL	-916.57	γ	0.34	t_2	1.14	LL	-924.02

λ	0.001	LL	-919.61
LL	-915.64		

Modelo de Von Bertalanffy (MVB), modelos de Schnute y Richardson (MS-R), modelos de Gompertz (MG) y modelo logístico (ML); LL, log likelihood (máxima verosimilitud).

De los modelos analizados a partir de la teoría de la información (AIC) y el peso de Akaike (W_i), se encontró que el modelo de Von Bertalanffy y el de Schnute y Richardson, presentaron el mejor soporte estadístico (Tabla III); sin embargo, el modelo de Gompertz presentó un soporte estadístico moderado (Tabla III), por lo que, se podría ser considerado un modelo viable para describir el crecimiento de *B. panamensis*. Mientras tanto, el modelo Logístico quedó descartado por no presentar un buen soporte estadístico (Tabla III).

Tabla III. Valores del AIC, Δ_i , W_i y L^∞ obtenidos de los modelos ajustados con los datos promedios de longitud a la edad para *B. panamensis*.

Modelo	k	AIC	Δ_i	W_i (%)	L^∞ (cm)	E.E.	IC 95% menor	IC 95% mayor
MVB	3	1839	0	73	45.3	1.09	43.15	47.43
MS-R	5	1841	2	24	50.0	3.65	42.83	57.20
MG	3	1845	6	3	44.1	2.32	39.49	48.62
ML	3	1854	15	0	43.3	3.09	37.22	49.36

Parámetros del modelo (k); índice de Akaike (AIC); incremento de Akaike (Δ_i); valor ponderado o peso de Akaike (W_i); longitud asintótica (L^∞).

Los parámetros de crecimiento de *B. panamensis* estimados en el presente estudio con el modelo de Von Bertalanffy, difieren a los calculados por Muro-Torres (2011) y a los reportados para otras especies Ariidae en otras regiones (Velasco y Oddone, 2004). La estimación del crecimiento a partir de la inferencia multimodelo, solo se ha evaluado en *O. platypogon* de la costa de Oaxaca, en el cual determinaron que el modelo de Gompertz describió mejor sus parámetros (Anislado-Tolentino *et al.*, 2014). Sin embargo, el autor de dicho trabajo recomienda tener precaución al utilizar este modelo, ya que el crecimiento los peces a veces se ve afectado por el ambiente. En otras especies de peces se ha utilizado la inferencia multimodelo para evaluar diversos modelos de crecimiento (García-Valdez, 2013; Aragón-Noriega, 2014) y ha sido un método útil para elegir aquel modelo que mejor describe los parámetros de crecimiento.

Reproducción

Se procesaron histológicamente un total de 220 ovarios y 206 testículos de *B. panamensis*. Para después ser observados al microscopio y poder describir las fases y estadios de desarrollo gonádico.

Índice gonadosomático

El índice gonadosomático (IGS) de machos y hembras, varió mensualmente de 0.10 a 0.26 y 0.4 a 7.9. El IGS de las hembras presentó dos picos altos en abril y junio. Mientras que los machos presentaron tres picos que tuvieron lugar en marzo, julio y octubre. Los incrementos máximos del IGS de machos y hembras, muestran claramente un indicio de la época de reproductiva. El cual será corroborado mediante análisis microscópico del tejido gonadal. Se encontró una correlación positiva y significativa entre el IGS de machos y hembras ($R=0.7112$, $p=0.003$).

Dimorfismo sexual

Se encontraron hembras de *B. panamensis*, con presencia y ausencia de caracteres sexuales secundarios. En el caso de la hembra madura se hace notar una carnosidad engrosada en la parte axial de la aleta pélvica, la cual no es notoria en la hembra inmadura.

Al parecer los caracteres sexuales secundarios en las hembras solo se presentan una vez que han alcanzado la madurez sexual. Esto ya ha sido reportado para *A. guatemalensis* (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1976), así como para *O. platypogon* (Denton-Castillo, 2016) y otras especies de la familia Ariidae (Rimmer y Merrick, 1983; Tilney, 1990). Aunque, existen otros caracteres sexuales secundarios que solo se presentan durante la actividad reproductiva; por ejemplo, el ensanchamiento de la boca (cavidad urofaringea) de los machos, reportado *A. guatemalensis* (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1976) y *B. marinus* (Segura-Bertolini y Mendoza-Carranza, 2013), considerada como una estrategia reproductiva de la incubación oral (cuidado parental), que les provee mayor capacidad de acarreo de los huevos fecundados.

Índice hepatosomático

El valor más bajo (1.2) y más alto (1.8) del IHS de las hembras, ocurrió en los meses de noviembre de 2014 y octubre de 2015, aunque la variación fue continua en todos los meses. Mientras que, los machos presentaron el valor más bajo del IHS, en diciembre (1.2) de 2014, con un pico pronunciado en abril (2.7), el cual disminuyó en marzo (1.8) de 2015 y volvió a incrementar en octubre de 2015. La correlación entre ambos sexos del IHS fue positiva moderada ($R=0.5097$, $p=0.52$). Sin embargo, no se observó un claro desgaste energético en *B. panamensis*, lo que podría indicar la buena salud de los organismos.

El factor de condición (FC)

El FC mensual, osciló de 1.9 a 2.3 en machos y de 0.9 a 1.1 en hembras. Se observó una correlación positiva entre el FC de machos y hembras ($R=0.6812$, $p=0.005$) de *B. panamensis*. También se obtuvo una correlación positiva entre el FC-M y el IHS ($R=0.5091$, $p=0.021$). Se pudo notar un ligero efecto en la condición de los organismos, su

condición decreció en julio y aumentó en octubre de 2015, exactamente cuando el IGS tiende a disminuir.

Incubación bucal

Se encontró un ejemplar juvenil de *B. panamensis* en la cavidad bucal de un macho adulto. En la misma zona de pesca Muro-Torres y Amezcua (2011), han encontrado huevos y crías con desarrollo avanzado dentro de la boca de los machos de *B. panamensis*, así como para *O. platypogon* (Muro-Torres, 2011; Denton-Castillo, 2016), reportando que la incubación dura por lo menos cuatro meses. Dicho comportamiento también se ha descrito para *A. guatemalensis* en el sistema lagunar costero de Guerrero, México (Yáñez-Arancibia *et al.*, 1976) y para el *B. marinus* del Golfo de México (Segura-Bertolini y Mendoza-Carranza, 2013). En otras partes del mundo, también se ha descrito el mismo patrón de incubación para los Ariidae, donde el periodo de incubación varía de 120 a 140 días, hasta que las crías alcanzan máxima etapa de desarrollo y pueden ser libres nadadores (Rimmer y Merrick, 1983; Tilney, 1990).

Estructura del stock

Los ejemplares de *B. panamensis* mostraron un intervalo de tallas de 13 a 49.5 cm de longitud total (Lt), las clases con mayor frecuencia fueron 38, 40.5 y 43 cm de Lt. Se evaluó el efecto del sexo de la distribución de tallas y la prueba de Kolmogorov-Smirnov detectó diferencias significativas ($D_{\max}=0.011$; $p < 0.001$). Las hembras presentaron una mayor frecuencia de tallas grande que los machos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Denton-Castillo (2016) para *O. platypogon* en Mazatlán, Sinaloa.

Se analizó un total de 425 organismos, de los cuales 220 hembras y 205 fueron machos. No se observó una segregación por sexos, en la mayoría de los meses la proporción sexual fue de 1:1 ($X^2=0.53$; $p=0.47$), al igual que la proporción total. Solo durante el mes de julio de 2015, la proporción 1:1 no se mantuvo ($X^2=7.20$; $p=0.01$).

En estudios previos tampoco se ha encontrado segregación por sexo para *B. panamensis* (Muro-Torres, 2011), tampoco para *O. platypogon*, excepto cuando se calculó la proporción sexual por intervalo de tallas, donde las clases de tallas 44, 48, 50 y 52, fueron diferente de 1:1 (Denton-Catillo, 2016). En otras especies de la familia tampoco se ha encontrado segregación por sexo (Mazzoni *et al.*, 2000; Caballero-Chávez, 2013).

CONCLUSIONES

La relación entre las medidas del otolito y la longitud total pez, demostraron que los otolitos eran viables para determinar la edad y crecimiento.

Se encontró que los otolitos lapilli de *B. panamensis* forman dos anillos de crecimiento por año, uno en verano y otro en invierno, lo cual sirvió para determinar la edad.

La estructura de edades de *B. panamensis* está representada por organismos de 1 a 14 años de edad, siendo más frecuentes las edades de 5 a 8 años, por lo tanto, se rechaza la primera hipótesis, ya que la edad máxima fue mayor a ocho años.

El modelo mejor describe el crecimiento individual de *B. panamensis* fue el de Von Bertalanffy y el modelo de Schnute y Richards.

El índice gonadosomático indica un ciclo reproductivo anual.

El índice hepatosomático de machos presentó un incremento notable en su condición durante abril de 2015, posiblemente relacionado con una preparación energética para el proceso de incubación.

El factor de condición nutricional mostró fluctuaciones notables durante el periodo de estudio y la tendencia fue similar entre hembras y machos.

Las hembras adultas de *B. panamensis*, presentaron diferencias en las aletas pélvicas, con respecto a las hembras juveniles.

Se registró evidencia de incubación por parte de un macho adulto de *B. panamensis*.

La estructura de tallas está representada por organismos de 13 a 49 cm de Lt. Las hembras fueron de las tallas superiores a los machos.

La población de *B. panamensis* está integrada por machos y hembras en igual proporción (1:1).

LITERATURA CITADA

Allen, G.R., Robertson, D.R. 1994. Fishes of the tropical eastern Pacific. University of Hawaii Press, Honolulu. 332 pp.

Anislado-Tolentino, V., González-Medina, G., Ramos-Carrillo, S., Cerdenares-Ladrón de Guevara, G., Ortiz-Pérez, T., Ramírez-Antonio, E. 2014. Inferencia de multimodelos para la selección del mejor descriptor de la edad y el crecimiento de *Occidentarius platypogon* (Ictaluriformes: Ariidae) en Oaxaca, México. Cien. Pesq., 22(1):69-78.

Amezcuca F., Madrid, J., Aguirre, H. 2006. Effect of the artisanal shrimp fishery on the ichthyofauna in the coastal lagoon of Santa Maria la Reforma, Gulf of California. Cien. Mar., 32:97-109.

Amezcuca, F., Muro-Torres, V. 2012. Biología reproductiva del bagre cominate *Occidentarius platypogon* (Pisces: Ariidae) en el sureste del golfo de California. Lat. Am. J. Aquat. Res., 40(2):428-434.

Arreguín-Sánchez F., Arcos-Huitrón E. 2011. La pesca en México: estado de la explotación y uso de los ecosistemas. Hidrobiológica, 21(3):431-462.

Aragón-Noriega, E. A. 2014. Modelando el crecimiento individual de la corvina golfina, *Cynoscion othonopterus* (Pisces: Sciaenidae), con el enfoque multimodelo. Cien. Mar., 40(2):149-161.

Bautista-Romero, J. J., González-Peláez, S. S., Campos-Dávila, L. D. B., Lluch-Cota, D. B. 2011. Length-weight relationships of wild fish captured at the mouth of Río Verde, Oaxaca, México and connected lagoons (Miniyua, El Espejo, Chacahua and Pastoría). J. Appl. Ichthyol., 28(2):269–271. doi:10.1111/j.1439 0426.2011.01914.x

- Bagenal, T. B. 1973. Fish fecundity and its relations with stock and recruitment. Rapp. P.-v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer, 164:186-198.
- Barbieri, L., dos-Santos, P. R., Andreatta, J. 1992. Reproductive biology of the marine catfish, *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae), in the Jacarepaguá Lagoon System, Rio de Janeiro, Brazil. Environ. Biol. Fish., 35:23-35.
- Beamish, R. J., Fournier, D. A. 1981. A Method for comparing the precision of a set or age determinations. J. Fis. Aquat. Sci., 38:982-983.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer, New York, New York, EEUU. 488 pp.
- Bruton, M. N. 1996. Alternative life-history strategies of catfishes. Aquat. Living. Resour., 9:35-41.
- Caballero-Chávez, V. 2013. Madurez y reproducción de bagre bandera *Bagre marinus* en el sudeste de Campeche. Cien. Pesq., 21(2):13-19.
- Campana, S. E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. J. Fish Biol., 59:197-242.
- Campana S. E., Thorrold, S. R. 2001. Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations?. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 58:30-38.
- Daniel, W. 2002. Bioestadística. 4a Edición, México. Limusa Wiley, 900 p.
- Denton-Castillo, J. 2016. Aspectos reproductivos de *Occidentarius platypogon* (günther, 1864) (Ariidae) y propuestas para el manejo de la pesquería de Mazatlán, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México.
- Easey, M. W., Millner, R. S. 2008. Improved methods for the preparation and staining of thin sections of fish otoliths for age determination. Sci. Ser. Tech Rep., Cefas Lowestoft, 143:12.
- Froese, R., Binohlan, C. 2000. Empirical relationships to estimate asymptotic length, length at first maturity and length at maximum yield per recruit in fishes, with a simple method to evaluate length frequency data. J. Fish. Biol., 56: 758-773.
- García-Valdez, J. R. 2013. Edad y crecimiento del huachinando del Pacífico *Lutjanus peru* (Perciformes: Lutjanidae) en la parte sur del Golfo de California. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 54 pp.
- Haddon, M. 2001. Modelling and quantitative methods in fisheries. Chapman and Hall, Boca Raton, Florida, EEUU. 406 pp.
- Hauser, M., Doria, C. R. C., Melo, L. R. C., Santos, A. R., Ayala, D. M., Nogueira, L. D. Duponchelle, F. 2018. Age and growth of the Amazonian migratory catfish

Brachyplatystoma rousseauxii in the Madeira River basin before the construction of dams. Neotropical Ichthyology, 16(1):e170130. doi:10.1590/1982-0224-20170130.

Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Techniques. W.H. Freeman, San Francisco, California. 692 pp.

Kailola, P.J., Bussing, W.A. 1995. Ariidae. Bagres marinos. En W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter y V. Niem (eds.). Guía FAO para identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. 3 Vols. FAO, Rome. Pp: 860-886.

KatsanevaKis, S. 2006. Modelling fish growth: Model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. Fisheries Research, 81(2-3):229-235.

KatsanevaKis, S., Maravelias, C. D. 2008. Modelling fish growth: Multi-model inference as a better alternative to a priori using von Bertalanffy equation. Fish and Fisheries 9(2):178-187.

Mazzoni, R., Petito, J., Miranda, J. C. 2000. Reproductive biology of *Genidens genidens* a catfish from the Marica lagoon RJ. Ciência e cultura, 52(2).

Muñetón-Gómez, M. S., Villalejo-Fuerte, M., García-Melgar, G. 2000. Manual de técnicas histológicas aplicadas a organismos marinos. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, Baja California Sur. 80 pp.

Muro-Torres, V. 2011. Crecimiento y reproducción de los bagres marinos *Arius platypogon* (Gunther, 1864) y *Bagre panamensis* (Gill, 1883) (Pisces: Ariidae) 66 en el sur de Sinaloa. Tesis de maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Mazatlán, México. 65 p.

Muro-Torres, V., Amezcua, F. 2011. Observations on the reproductive biology of the Chihuil Sea Catfish in the Southeast Gulf of California: Implications for Management. Trans. Am. Fish. Soc., 77:000–000.

Nelson, J. S., Grande T. C., Wilson M. V. H. 2016. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, U.S.A. 752 pp.

Reis, E. G. 1986. Age and growth of the marine catfish, netuma barba (siluriformes, ariidae), in the estuary of the patos lagoon (brasil). Fishery Bulletin, 84(3).

Ricker, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bull. Fish. Res. Bd. Can., 191:1-382.

Rimmer, M. A., Merrick, J. R. 1983. A review of reproduction and development in the fork-tailed catfishes (Ariidae). Proc. Linn. Soc. N.S.W., 107 (1).

Robertson, D. R., Allen, G. R. 2015. Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: sistema de Información en línea. Versión 2.0 Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales, Balboa, República de Panamá. <https://biogeodb.stri.si.edu/sfstep/es/pages> (Acceso, 10/10/2018).

- Rodrigues-Maciel, T., Vaz-Dos-Santos, A. M., Vianna, M. 2018. Can otoliths of *Genidens genidens* (Cuvier 1829) (Siluriformes: Ariidae) reveal differences in life strategies of males and females?. *Environ. Biol. Fish.*, doi:10.1007/s10641-018-0804-5.
- Segura-Bertolini, E. C., Mendoza-Carranza, M. 2013. Importance of male gafftopsail catfish, *Bagre marinus* (Pisces: Ariidae), in the reproductive process. *Cien. Mar.*, 39(1):29-39.
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J. 2009. Introduction to biostatistics. 2nd ed. Dover Publications, New York. 363 p.
- Somerton, D.A. 1980. A computer technique for estimating the size of sexual maturity in crabs. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37:1488-1494.
- Tilney, R. L. 1990. Aspects of the biology, ecology and population dynamics of *Galeichthys feliceps* (Valenciennes) and *G. ater* (Castelnau) (Pisces: Ariidae) off the south-east coast of south Africa. Tesis de Doctorado. Universidad de Rhodes, Sudáfrica. 278 pp.
- Velasco, G. M., Oddone, O. 2004. Growth parameters and growth performance indexes for some populations of marine catfishes (Actinopterygii, Siluriformes, Ariidae). *Acta Biológica Leopoldensia*, 26(2):307-313.
- Velasco, G., Reis, E. G., Vieira, J. P. 2007. Calculating growth parameters of *Genidens barbatus* (Siluriformes, Ariidae) using length composition and age data. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1):64-69. doi:10.1111/j.14390426.2006.00793.
- Wootton, R.J., Smith, C. 2015, Reproductive biology of teleost fishes. John Wiley & Sons, Ltd, Oxford; Hoboken, New Jersey. DOI: 10.1002/9781118891360
- Yañez-Arancibia, L. A., Curiel-Gómez, J., Leyton de Yañez, V. 1976. Prospección biológica y ecológica del bagre marino *Galeichthys caeruleascens* (Günther) en el sistema lagunar costero de Guerrero, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, Universidad Nacional Autónoma de México 3:125–180.

VALOR ENERGÉTICO DE LA GRASA RECICLADA OBTENIDA DE VERTEDERO UTILIZADA COMO INGREDIENTE EN LAS DIETAS DE FINALIZACIÓN EN OVINOS

Jorge Luis Ramos Méndez¹, Dr. Alfredo Estrada Angulo¹, Dr. Alejandro Plascencia Jorquera², Dr. Luis Corona Gochi³, Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez¹, Dr. Jesus David Urias Estrada¹

1 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa.

2 Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California.

3 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

INTRODUCCIÓN

En los últimos decenios la agenda ambiental se ha convertido, junto con la económica y social, en una de las más importantes para los gobiernos de los países, no solo en México sino de todo el mundo. Esto como resultado del interés y reclamo de la sociedad para atender los cada vez más sensibles problemas ambientales derivados del crecimiento de las sociedades modernas. Las enfermedades asociadas a la contaminación del aire, agua y suelos, la mayor severidad de los fenómenos meteorológicos y el agotamiento de muchos recursos naturales contribuyeron, sin duda, a marcar la necesidad de considerar el componente ambiental en las políticas de desarrollo. En México, la necesidad de atender los problemas ambientales confrontó al gobierno con la preocupante realidad de la insuficiencia de conocimiento e información que le permitiera evaluar objetivamente la situación del ambiente y los recursos naturales, así como de los factores que los afectan y el resultado de las acciones implementadas para detener y revertir su deterioro. En este contexto, uno de los pasos necesarios para formular estrategias y políticas de gobierno que conjunten armónicamente el desarrollo económico y la conservación del ambiente es contar con información suficiente y confiable.

En la actualidad las regulaciones ambientales han sufrido modificaciones y son cada vez más estrictas, por ejemplo, se ha hecho necesario colocar en restaurantes y cafeterías trampas en los vertederos de agua para recoger la grasa. El resultado, es un incremento de la disponibilidad de un tipo de grasa con características físico-químicas similares a la grasa amarilla convencional, la cual puede ser utilizada para la alimentación del ganado, conocida como "grasa de trampa" (GT). Esta, comparada con la grasa amarilla (GA), misma que también es obtenida de restaurantes y cafeterías, se estima que la GT tiene una concentración tres veces mayor de ácidos grasos libres (AGL) lo que teóricamente indica que al incrementarse el contenido de ácidos libres en una fuente de grasa se espera que el aporte de contenido energético se aumente de la misma manera, es decir, que exista una mayor eficiencia energética por parte del ganado. Sin embargo, las concentraciones de AGL en grasa suplementarias ha mostrado resultados contradictorios, Czerkawski (1973) observó una marcada disminución en la digestibilidad del aceite de linaza (y por lo tanto de su valor energético) cuando se alimentó al ganado de corral con

una fuente de AGL en lugar de triglicéridos. Mientras que Zinn (1989b) observó una disminución en la digestión de la fibra ruminal cuando se suplementó refinados de jabón vegetal (50% de AGL) sustituyendo a la grasa amarilla (15% AGL). Sin embargo, existe un único estudio (Plascencia *et al.*, 1999) en el cual se ha valorado directamente a la GT. En este estudio en el cual el 5% de GA fue sustituido en 50 y 100% por GT se observó una mejora en la energía neta observada de la dieta cuando GT sustituyó totalmente a GA como resultado de una mayor aceptabilidad de la dieta. Hasta el momento, el valor energético de la GT en dietas de finalización para borregos no ha sido evaluado. Por lo anterior se plantea una serie de experimentos con la finalidad de evaluar el contenido energético de la GT utilizado como ingrediente en dietas de finalización para borregos.

HIPÓTESIS

El aumento en los niveles de contenido de ácidos grasos libres de la dieta tiene un efecto sobre el valor alimenticio de la grasa suplementaria empleada en las dietas de la fase de finalización para borregos.

METODOLOGÍA

Experimento 1. Evaluación del nivel de suplementación de grasa de trampa sobre aceptabilidad, valor energético de la grasa, rendimiento productivo y características de la canal.

Se utilizarán 48 corderos de la raza Pelibueyx Katahdin (~24 kg/PV) en corral en una prueba de comportamiento productivo para evaluar el efecto del nivel de suplementación de GT. Los tratamientos consistirán en niveles de suplementación de 0, 2, 4 y 6% (en base materia seca de la dieta). La fuente de grasa de trampa será obtenida (fuente por definir). La grasa reemplazara directamente al grano de maíz quebrado. El valor energético de la grasa se estimará de acuerdo a la técnica de reemplazo. Los borregos serán alojados en corraletas con acceso *ad libitum* a las dietas experimentales, la alimentación será ofrecida dos veces al día, los corrales que se utilizarán en el experimento serán de 6m² techados, con bebederos automáticos y literas de alimentación de cerca de 1 m. Se adaptarán los corderos a la dieta experimental 14-d antes del inicio del experimento. Las asignaciones diarias de alimento se ajustarán para permitir un mínimo de rechazo de (<5% del total ofrecido) revisando el comedero antes de alimentar por la mañana. La cantidad de alimento ofrecido y los residuos se pesarán diariamente. Los comederos serán evaluados visualmente entre las 07.40 y las 07.50 h de cada mañana, los rechazos serán recolectados y pesados y se determinara el consumo de alimento. Los corderos serán pesados individualmente al comienzo de la prueba y 28-d intervalos a partir de entonces. El peso vivo ajustado (SBW) se determinó como completo BW × 0,96 (ajuste componente visceral; Cannas *et al.*, 2004). Al finalizar el estudio, todos los corderos se pesarán después de un ayuno de 18 h (comida, pero no agua potable) para obtener SBW final. Los pesos de la canal caliente se obtendrán en el momento del procesamiento. Después de que las canales se enfriarán durante 48 h, se obtendrán las siguientes variables: 1) área muscular longissimus, tomada por lectura de cuadrícula directa del músculo longissimus en la 12^a costilla; 2) grasa subcutánea tomada sobre el músculo longissimus en la 12^a costilla en un lugar a 3/4 de la longitud lateral desde el

extremo del hueso del lomo; 3) Grasa de riñón, pelvis y corazón (KPH) y 4) Marmoleo (USDA, 1965). La energía de ganancia se calculó con la siguiente ecuación: $EG = (.0557 W.75) g1.097$, donde EG es la energía diaria depositado (Mcal / d), g= es ganancia de peso (kg / d), y W es el peso corporal medio (kg; NRC, 1984). La energía de Mantenimiento (EM, Mcal / d) se calculó con la siguiente ecuación: $EM = .084W.75$ (Garrett, 1971). De las estimaciones derivadas para la energía requerida para mantenimiento y ganancia, la NEm y la NEg de las dietas se obtuvieron usando las siguientes ecuaciones $NEm = (x = -b \pm \sqrt{b^2 - 4ac} / 2c)$, donde $a = -.41EM$, $b = .877EM + .41DMI + EG$ y $c = -.877DMI$; $NEg = .877NEm - .41$. Los valores NEm y NEg (Mcal / kg) para grasa amarilla fueron determinados usando la técnica de reemplazo. Se utilizó un valor de NEm de 2,38 Mcal / kg para maíz en hojuela (NRC, 1984). El valor de reemplazo NEm de suplemento la grasa se estimó de la siguiente manera: $Fat\ NEm = [(NEm\ supplemented\ diet - NEm\ dieta\ no\ suplementada) / .05] + 2.38$. La constante (.05) representa la cantidad de grasa que reemplazó el maíz en hojuela en la dieta. Todos los datos serán analizados como un experimento de diseño de bloques completos al azar (Hicks, 1973).

Experimento 2. Evaluación del aumento en los niveles de contenido de ácidos grasos libres sobre el valor alimenticio de la grasa suplementaria, comportamiento productivo y características de la canal.

Se utilizarán 48 corderos de la raza Pelibueyx Katahdin (~24 kg/PV) en corral en una prueba de comportamiento productivo para evaluar el efecto del aumento en los niveles de contenido de ácidos grasos libres sobre el valor alimenticio de la grasa suplementaria en comportamiento productivo, energética de la dieta, y características de la canal. El experimento tendrá una duración de 84 días. Los tratamientos consistirán en una dieta de finalización sin grasa suplementaria y dietas de finalización suplementada con 5% de grasa con bajo contenido de AGL (sebo), medio contenido de AGL (grasa amarilla) y alto contenido de AGL (grasa de trampa). Los borregos serán alojados en corraletas con acceso *ad libitum* a las dietas experimentales, la alimentación será ofrecida dos veces al día, los corrales que se utilizarán en el experimento serán de 6 m² techados, con bebederos automáticos y literas de alimentación de cerca de 1 m. Se adaptarán los corderos a la dieta experimental 14-d antes del inicio del experimento. Las asignaciones diarias de alimento se ajustarán para permitir un mínimo de rechazo de (<5% del total ofrecido) revisando el comedero antes de alimentar por la mañana. La cantidad de alimento ofrecido y los residuos se pesarán diariamente. Los comederos serán evaluados visualmente entre las 07:40 y las 07:50 h de cada mañana, los rechazos serán recolectados y pesados y se determinará el consumo de alimento. Los corderos serán pesados individualmente al inicio de la prueba y 28-d intervalos a partir de entonces. El peso vivo ajustado (SBW) se determinó como $completo\ BW \times 0,96$ (ajuste componente visceral; Cannas et al., 2004). Al finalizar el estudio, todos los corderos se pesarán después de un ayuno de 18 h (comida, pero no agua potable) para obtener SBW final. Los pesos de la canal caliente se obtendrán en el momento del procesamiento. Después de que las canales se enfriaran durante 48 h, se obtendrán las siguientes variables: 1) área

muscular longissimus, tomada por lectura de cuadrícula directa del músculo longissimus en la 12ª costilla; 2) grasa subcutánea tomada sobre el músculo longissimus en la 12ª costilla en un lugar a 3/4 de la longitud lateral desde el extremo del hueso del lomo; 3) Grasa de riñón, pelvis y corazón (KPH) y 4) Marmoleo (USDA, 1965). La energía de ganancia se calculó con la siguiente ecuación: $EG = (.0557 W.75) g1.097$, donde EG es la energía diaria depositado (Mcal / d), g= es ganancia de peso (kg / d), y W es el peso corporal medio (kg; NRC, 1984). La energía de Mantenimiento (EM, Mcal / d) se calculó con la siguiente ecuación: $EM = .084W.75$ (Garrett, 1971). De las estimaciones derivadas para la energía requerida para mantenimiento y ganancia, la NEm y la NEg de las dietas se obtuvieron usando las siguientes ecuaciones $NEm = (x = -b \pm \sqrt{b^2 - 4ac} / 2c)$, donde $a = -.41EM$, $b = .877EM + .41DMI + EG$ y $c = -.877DMI$; $NEg = .877NEm - .41$. Los valores NEm y NEg (Mcal / kg) para grasa amarilla fueron determinados usando la técnica de reemplazo. Se utilizó un valor de NEm de 2,38 Mcal / kg para maíz en hojuela (NRC, 1984). El valor de reemplazo NEm de suplemento la grasa se estimó de la siguiente manera: $Fat\ NEm = [(NEm\ supplemented\ diet - NEm\ dieta\ no\ suplementada) / .05] + 2.38$. La constante (.05) representa la cantidad de grasa que reemplazó el maíz en hojuela en la dieta. Todos los datos serán analizados como un experimento de diseño de bloques completos al azar (Hicks, 1973). Los efectos del tratamiento fueron probados los siguientes componentes ortogonales: 1) 0 vs 5% grasa suplementaria; 2) efecto lineal del nivel de FFA de suplemento grasa; y 3) efecto cuadrático del nivel de FFA de suplemento grasa.

LITERATURA CITADA

- AFOA. 1988. Trading and Arbitration Rules. p 34. American Fats and Oils Association, Inc., New York. <https://fatsandoils.org/> (Consulta, Marzo 2019).
- Aldrich, C.G., N. R. Merchen, and J. K. Drackley. 1995. The effect of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers: I. Organic matter, energy, fiber, and fatty acid digestion. *J. Anim. Sci.* 73:2120–2130. DOI: [10.2527/1995.7372120x](https://doi.org/10.2527/1995.7372120x).
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis (12th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>.
- Bergen, W. G., D. B. Purser, and J. H. Cline. 1968. Effect of ration on the nutritive quality of rumen microbial protein. *J. Anim. Sci.* 27:1497–1501. DOI: [10.4236/abb.2011.25050](https://doi.org/10.4236/abb.2011.25050)
- Bock, B. J., D. L. Harmon, R. T. Brandt, Jr., and J. E. Schneider. 1991. Fat source and calcium level effects on finishing steer performance, digestion, and metabolism. *J. Anim. Sci.* 69:2211–2224. DOI: [10.2527/1991.6952211x](https://doi.org/10.2527/1991.6952211x).
- Boggs, D. L., W. G. Bergen, and D. R. Hawkins. 1987. Effect of tallow supplementation and protein withdrawal on ruminal fermentation, microbial synthesis and site of digestion. *J. Anim. Sci.* 64:907–914.
- Brandt, R. T., Jr., and S. J. Anderson. 1990. Supplemental fat source affects feedlot performance and carcass traits of finishing yearling steers and estimated diet net

- energy value. *J. Anim. Sci.* 68:2208–2216. <https://pdfs.semanticscholar.org/6dc2/26b0fa870f714215fcb730beaa04fd1a9faa.pdf>. (Consulta, Marzo 2019).
- Coppock, C. E., and D. L. Wilks. 1991. Supplemental fat in highenergy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield, and composition. *J. Anim. Sci.* 69:3826–3837.
- Czerkawski, J. W. 1973. Effect of linseed oil fatty acids and linseed oil rumen fermentation in sheep. *J. Agric. Sci.* 81:517. <https://doi.org/10.1017/S0021859600086573>.
- Doreau, M., F. Legay, and D. Bauchart. 1991. Effect of source and level of supplemental fat on total and ruminal organic matter and nitrogen digestion in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:2233–2242. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78396-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78396-3).
- Elliot, J. P., J. K. Drackley, C. G. Aldrich, and N. R. Merchen. 1997. Effect of saturation and esterification of fat sources on site and extent of digestion of organic matter, fiber, and nitrogen. *J. Anim. Sci.* 75:2803–2812.
- Fellner, V., F. D. Sauer, and J.K.G. Kramer. 1997. Effect of nigericin, monensin, and tetronasin on biohydrogenation in continuous flow-through ruminal fermenters. *J. Dairy. Sci.* 80:921–928. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76015-6. DOI: [10.2527/1997.75102803x](https://doi.org/10.2527/1997.75102803x).
- Garrett, W. 1971. Energetic efficiency of beef and dairy steers. *J. Anim. Sci.* 32:451–456.
- Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handbook No. 379*. ARS, USDA, Washington, DC. DOI: [10.4236/ars.2014.33011](https://doi.org/10.4236/ars.2014.33011).
- Hatch, C. F., T.W.Perry, M. T. Mohler, and W. M. Beeson. 1972. Effect of added fat with graded levels of calcium and urea-containing rations for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 34:483–487.
- Hicks, C. R. 1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Hill, F. N., and D. L. Anderson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive determinations with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587–603. DOI: [10.1093/jn/64.4.587](https://doi.org/10.1093/jn/64.4.587).
- Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851–3863. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9).
- Krehbiel, C. R., R. A. McCoy, R. A. Stock, T. J. Klopfenstein, D. H. Shain, and R. P. Huffman. 1995. Influence of grain type, tallow level, and tallow feeding system on feedlot cattle performance. *J. Anim. Sci.* 73:2916–2921. DOI: [10.2527/1995.73102916x](https://doi.org/10.2527/1995.73102916x).
- Ludden, P. A., M. J. Cecava, and K. S. Hendrix. 1995. The value of soybean hulls as a replacement for corn in beef cattle diets formulated with or without added fat. *J. Anim. Sci.* 73:2706–2711.
- McAllan, A. B., B. R. Knight, and J. D. Sutton. 1983. The effect of free and protected oils on the digestion of dietary carbohydrates between the mouth and duodenum of sheep. *Br. J. Nutr.* 48:433–440. <https://doi.org/10.1079/BJN19830052>.

- Noble, R. C., J. H. Moore, and C. G. Harfoot. 1974. Observations on the pattern of biohydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. *Br. J. Nutr.* 31:99–108. <https://doi.org/10.1079/BJN19740012>.
- NRC. 1984. *Nutrient Requirements of Beef Cattle* (6th Rev. Ed.). National Academy Press, Washington DC.
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle* (7th Rev. Ed.). National Academy Press, Washington DC.
- Russell, J. B., and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 79:1503–1509. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76510-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76510-4)
- Sukhija, P., and D. L. Palmquist. 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuff and feces. *J. Agric. Food Chem.* 36:1202. DOI: [10.1021/jf00084a019](https://doi.org/10.1021/jf00084a019).
- USDA. 1965. *Official United States Standards for Grades of Carcass Beef*. C&MS, SRA 99, USDA, Washington, DC.
- Wolin, M. J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452–1459. (Consulta, Marzo 2019) http://www.uky.edu/Aq/AnimalSciences/instruction/asc684/PDF/JDS43_1452.pdf
- Wu, Z., A. Ohajuruka, and D. L. Palmquist. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:3025–3034. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78488-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78488-9).
- Wu, Z., and D. L. Palmquist. 1991. Synthesis and biohydrogenation of fatty acids by ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 74:3035–3046. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78489-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78489-0)
- Zinn, R. A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. *J. Anim. Sci.* 66:213–227.
- Zinn, R. A. 1989a. Influence of level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for steers: Feedlot cattle growth and performance. *J. Anim. Sci.* 67:1029–1037. <https://pdfs.semanticscholar.org/bd24/caf54b1587db927c2a8cb2703f1bbdb8bffe.pdf>.
- Zinn, R. A. 1989b. Influence of level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for feedlot steers: Metabolism. *J. Anim. Sci.* 67:1038–1049. <https://pdfs.semanticscholar.org/d5bc/a169bb1b78d9d75c494b1e59d78716338ca3.pdf>
- Zinn, R. A. 1990. Influence of steaming time on site of digestion of flaked corn in steers. *J. Anim. Sci.* 68:776–781.
- Zinn, R. A. 1992. Comparative feeding value of supplemental fat in steam-flaked corn- and steam-flaked wheat-based finishing diets for feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 70:2959–2969.
- Zinn, R. A. 1994. Effects of excessive supplemental fat on feedlot cattle growth performance and digestive function. *Prof. Anim. Sci.* 10:66–72. (Consulta, Marzo 2019) <https://www.researchgate.net/>

[publication/251989952_FAT_AND_PROTEIN_SUPPLEMENTATION_OF_CALF-FED_HOLSTEIN_STEERS.](#)

- Zinn, R. A., and F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. *Can. J. Anim. Sci.* 66:157–165. <http://www.nrcresearchpress.com/doi/pdf/10.4141/cjas86-017>
- Zinn, R. A., and A. Plascencia. 1992. Comparative digestion of yellow grease and calcium soaps of long chain fatty acids in cattle. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* 43:454–457.
- Zinn, R. A., and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. *J. Anim. Sci.* 71:11–17. DOI: [10.2527/1993.711111x](https://doi.org/10.2527/1993.711111x)
- Zinn, R. A., and A. Plascencia. 1996. Effect of forage level on the comparative feeding value of supplemental fat in growing-finishing diets for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1194–1201. DOI: [10.2527/1996.7461194x](https://doi.org/10.2527/1996.7461194x)
- Zinn, R. A., and Y. Shen. 1996. Interaction of dietary calcium and supplemental fat on digestive function and growth performance in feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 74:2303–2309.

**ESTIMACIÓN DE VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE POBLACIONES DE CHILES
(*Capsicum* spp.) DE TRASPATIO-JARDÍN Y CRIOLLOS DE MÉXICO** Carlos Eduardo
Ornelas Ramírez

**ESTIMATION OF MORPHOLOGICAL VARIATION OF POPULATIONS OF PEPPERS
(*Capsicum* spp.) OF BACKYARD GARDEN AND CREOLES FROM MÉXICO**

Carlos Eduardo Ornelas Ramírez^{1*}, Sergio Hernández Verdugo², Saúl Parra
Terraza³, Antonio Pacheco Olvera⁴, César Romero Higareda⁵.

¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias (Facultad de Agronomía-UAS),

²Director de tesis (Facultad de Agronomía-UAS), ³Codirector (Facultad de Agronomía-UAS), ⁴Asesor (Facultad de Agronomía-UAS), ⁵ Asesor (Facultad de Ciencias biológicas-UAS)

[*carlios_reyes@hotmail.com](mailto:carlios_reyes@hotmail.com)

RESUMEN

El chile (*Capsicum* spp.) es una de las primeras plantas domesticadas en el continente americano y es una de las especies de mayor importancia económica por su producción, distribución geográfica y su amplia variabilidad de usos y manejos. Es por eso que la estimación de los niveles de variación morfológica hace que sean aspectos necesarios para su manejo y conservación. Se colectaron frutos maduros de tres diferentes especies las cuales 33 poblaciones de chiles son de traspatio-jardín de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán, y 38 poblaciones de chiles criollos de esos mismos Estados. Se estimó la variación morfológica entre especies, entre morfotipos y dentro de poblaciones entre morfotipos. Se utilizó un diseño de 3 bloques completos al azar. Los caracteres morfológicos que se midieron son: altura de planta (cm), diámetro de tallo (mm), largo de hoja (mm), ancho de hoja (mm), días a la floración, días a la maduración, número de frutos, largo de fruto (mm), ancho de fruto (mm), peso por fruto (mg), número de lóculos del fruto, largo del pedicelo, número de semillas por fruto, peso de semilla y número de semillas por planta.

ABSTRACT

The genus *Capsicum* has been subjected to taxonomic and evolutionary studies through the use of morphological characters, but there are still problems in the delimitation of the genus and species. That's why the estimated levels of morphological variation makes them aspects necessary for management and conservation. Mature fruits of three different species were collected, which 33 populations peppers are from backyard garden of states of Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco and Yucatan, and 38 populations of creoles peppers from those states were collected. We estimated the morphological variation between species, between morphotypes and within populations among morphotypes. We used three randomizes blocks. Morphological characters that were measured are: plant height (cm), stem diameter (mm), leaf length (mm), width of leaf (mm), days to flowering, days to maturity, number of fruits, length of fruit (mm), width of fruit (mm), weight per fruit (mg), number of locules of the fruit, length of the pedicel, number of seeds per fruit, weight of seed and number of seeds per plant.

maturity, number of fruits, number of fruit locules, length of pedicel, length of the fruit (mm), width of the fruit (mm), fruit weight (mg), number of seeds per fruit, seed weight and seed number per plant.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del chile (*Capsicum* spp.) es importante en la historia, tradición y cultura de México y es, además, un producto agrícola con alta demanda mundial.

Se ha caracterizado como uno de los principales productores y consumidores de este picoso pero delicioso producto nacional y la tradición del consumo del chile se ha conservado desde tiempos prehispánicos. En la agricultura nacional representa para la economía nacional alrededor de 13 mil millones de pesos anualmente, se produce un volumen promedio de 2.2 millones de toneladas, de las cuales se exportan cerca de 900 mil toneladas de chiles frescos, secos y en preparaciones. El Estado de Chihuahua es el principal productor de este fruto con 562 mil toneladas al año; le siguen los Estados de Sinaloa con 556 mil toneladas y el Estado de Zacatecas con 348 mil toneladas. (SAGARPA, 2015a).

En México se producen unas 50 variedades de chiles entre los que se encuentran habanero, jalapeño, poblano, pimiento morrón (bell pepper), serrano, pasilla y guajillo (SAGARPA, 2015b).

En Sinaloa destacan los chiles jalapeño, serrano, morrón (bell), ancho entre otros; y también regionalmente destacan los chiles silvestres (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) conocidos comúnmente como chiles chiltepines o piquines.

En el Estado de Nayarit los chiles que destacan son: chile cora, chile de árbol, cola de rata, pasilla, guajillo, serrano, habanero entre otros (Universidad del Caribe, 2016; Infosiap, 2010).

En Oaxaca destacan los diferentes tipos cultivados como: jalapeño, chile de agua, taviche, soledad, sosteño, tusta, pasilla y huacle; esta cuantificación no incluye los chiles semidomesticados o de traspatio y mucho menos los silvestres, que sin duda alguna, representan la mayor diversidad y variabilidad del chile en el estado (Ramírez V *et al.*, 2000), Es importante señalar que en las regiones de este estado se producen y se consumen algunos tipos como: manzano (*Capsicum pubescens*), piquín, cuicateco, chile coxle, chile huacle, pasilla, tabaquero, de onza, entre otros (Castro García y López-López, 2005).

En el Estado de Tabasco tenemos diversidad de especies de chiles como *C. annuum*, *C. annuum* var. *glabriusculum* y *C. frutescens*. Donde destacan los chiles pico de paloma blanco y verde, Chile Garbanzo, Ojo de cangrejo, chile amashito, morrón (bell pepper), serrano, muela, entre otros (Pérez Valencia y Castañón Nájera 2006).

Los chiles que destacan del estado de Yucatán son: Habanero (*Capsicum chinense*), Chile bobo (cruza de chile dulce y xcat ik), Chile dulce (ch'uhuh ik, ch'ujuk iik, xwoolis y xts'a'ay iik), Chile xkat it, Chile chawa ik (chaka ik, chowak, sak ik), Chile sukurre, Chile maax ik, Chile ya'ax ik, todos ellos *Capsicum annuum* (González Estrada *et al.*, 2015).

El género *Capsicum* (Solanaceae) está conformado por alrededor de 35 especies Carrizo-García *et al.*, (2013), de las cuales *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens* son domesticadas. De las domesticadas, *C. annuum* es la especie de mayor importancia económica, se cultiva ampliamente en todo el mundo y se considera que fue domesticada en México (Pickersgill, 1971). Esta especie es la que presenta la mayor variación en tamaño, color y forma de los frutos. A ella pertenecen los tipos de chiles conocidos como "Serrano", "Jalapeño", "Ancho" y "Morrón o "Bell pepper", entre otros.

Las comunidades indígenas y campesinas domesticaron primero las semillas y luego al seleccionarlas las mejoraron año con año, de manera lenta y segura. Este mejoramiento de las semillas se ha sostenido durante miles de años. La palabra sostenible se atribuye a lo que sobrevive al tiempo. Las variedades criollas han ido evolucionando en compañía de los insectos, hongos y plantas arvenses; el campesino a podido escogerlas sin necesidad de insumos químicos. Las semillas criollas descendientes de estas plantas domesticadas son sostenibles y diversas. La semilla criolla no se mejora solamente por rendir suficiente para dar comida a los campesinos, si no que se va adaptando y haciendo tolerante y resistente a las plagas, a las enfermedades, a las condiciones del clima, a las sequías, a las inundaciones, a los suelos mas o menos pobres; todas estas son las ventajas de adaptación, la evolución asociando la selección campesina y la selección natural (Andreu Pal Salom, 2008).

El concepto cultivo incluye un conjunto de formas de manejo, ya sea de poblaciones o comunidades vegetales, mientras que la domesticación es un proceso evolutivo que resulta de manipular los genotipos de las plantas y no necesariamente se logra con sólo manejar el ambiente (Casas *et al.*, 1997). Es decir, la domesticación puede ocurrir a través de formas de manejo no agrícola, no consideradas formas de cultivo (Rindos, 1984).

La domesticación se define, por tanto, como un proceso de selección genética continuo (consciente o inconscientemente) ejercida por los humanos durante la adaptación de plantas y animales, que puede ser para el cultivo o crianza, respectivamente (Gepts y Papa, 2002; Gepts, 2004a). En lo que respecta a las plantas, este proceso genera cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos (Díaz Guillén F, 2010).

La caracterización morfológica de los recursos vegetales, es de utilidad, porque permite definir una serie de descriptores útiles de importancia agronómica o de clasificación e identificación de grupos genéticos. En particular, los estudios realizados sobre la diversidad del género *Capsicum*, se han basado en métodos descriptivos por medio de caracteres morfológicos de planta, flor y fruto (Moreno-Pérez *et al.*, 2011).

Diversos investigadores han indicado que la distribución de la variación fenotípica entre y dentro de las poblaciones, así como la proporción heredable de ésta, dependen del carácter y la especie estudiada (Rice y Mack, 1991; Cahill y Ehdaie, 2005; Felde *et al.*, 2006; Zhang y Zhou, 2006).

Estudios recientes con isoenzimas y marcadores moleculares RAPD's (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001, 2006, Oyama *et al.*, 2006) indican que las poblaciones de chile silvestre del noroeste de México mantienen altos niveles de variación genética dentro y entre sus poblaciones. De igual manera Martínez-Sánchez, (2010), encontró alta variabilidad morfológica en la mayoría de sus caracteres de *Capsicum annuum* L. y con los de Narez-Jiménez, (2014), donde encontró variabilidad morfológica en chiles cultivados y de traspatio del estado de Tabasco.

Hernández-Verdugo *et al.* (1998) menciona que las poblaciones silvestres de *C. annuum* del estado de Sinaloa presentan una gran variabilidad morfológica y se diferencian significativamente en todos los caracteres medidos, excepto en el diámetro del tallo. En otro trabajo elaborado por Hernández-Verdugo *et al.* (2012), menciona que las poblaciones de *C. annuum* silvestre del noroeste de México mantienen elevada variación en las características morfológicas medidas dentro y entre ellas indicando que esta especie es un recurso genético valioso que debe ser estudiado para mejorar su uso y conservación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El género *Capsicum* ha sido sometido a estudios taxonómicos y evolutivos por medio del uso de caracteres morfológicos, pero aún persisten problemas en la delimitación del género y sus especies; además la sociedad desconoce la importancia de los diferentes niveles de domesticación de esta especie. Es por eso que la estimación de los niveles de variación morfológica hace que sean aspectos necesarios para su manejo y conservación de esta especie tan importante al nivel mundial

HIPÓTESIS

Las poblaciones de chiles de traspatio-jardín y criollas de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán presentan variación morfológica entre especies, entre morfotipos y dentro de poblaciones entre morfotipos.

OBJETIVO GENERAL

Estimar la variación morfológica de poblaciones de chiles (*Capsicum* spp.) de traspatio-jardín y criollos de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar los morfotipos colectados de las tres especies de chiles de traspatio-jardín y criollos de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán.
2. Caracterizar mediante caracteres morfológicos los morfotipos de chiles traspatio-jardín y criollos de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán.

3. Determinar la variación morfológica de las poblaciones traspatio-jardín y criollas de chile (*Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum frutescens*) de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán.
4. Determinar la distribución de variación entre morfotipos y entre y dentro de población.
5. Determinar la distribución de variación entre las tres especies de chiles traspatio-jardín y criollos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó dentro de un invernadero bajo malla-sombra que permita el paso de 75% de luz solar, instalado en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, situada en el km 17.5 de la carretera Culiacán-Eldorado, geográficamente localizado a 24° 37' 24.40" de latitud Norte y 107° 26' 35.69" de longitud Oeste, a una altitud de 38.54 msnm.

Se colectaron frutos maduros de 33 poblaciones de chiles de traspatio-jardín de los Estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Yucatán, y 38 poblaciones de chiles criollos de esos mismos Estados. Después de la colecta se prosiguió en sacar las semillas a todos los frutos colectados, enseguida las semillas de cada población se dejaron reposando durante 36 horas en ácido giberélico al 90%, 1gr L⁻¹ de agua destilada, para posteriormente ser sembradas en charolas de poliestireno de 128 cavidades con sustrato Peat-Moss. La primera toma de datos es la germinación, cuantas semillas en total germinaron de todas las poblaciones sembradas. La segunda toma de datos es al mes de haber germinado la primera planta (plántulas) y las variables son: altura de planta (cm), diámetro de tallo (mm), largo de hoja (cm), ancho de hoja (cm) y número de hojas verdaderas (6 plantas por población). Ya germinadas todas las plantas aproximadamente a los 75 días después de la siembra, se realizó el trasplante en bolsas agrícolas de 10 kg de suelo de aluvión, a una separación de 30 cm por bolsas, 1.30 m entre surco. Las plántulas trasplantadas se tomaron al azar, 6 plántulas por población, con un total de 426 plantas; en un diseño de tres bloques completos al azar con respecto a la población.

La tercera y cuarta toma de datos se tomaron cuando las plantas alcanzaron su madurez (6 a 10 meses respectivamente) se medieron las características: altura de planta (cm), diámetro de tallo (mm), largo de hoja (cm), ancho de hoja (cm), días a la floración, días a maduración del fruto, número de frutos, largo y ancho del fruto (mm), peso por fruto (los primeros 5 frutos de la planta), número de lóculos del chile, largo del pedicelo, número de semillas por fruto (de los 5 frutos anteriormente seleccionados), peso de semilla (mg) y número de semillas por planta, siendo un total de 15 variables de estudio. Para obtener el peso de semilla de cada planta se tomarán los cinco frutos seleccionados y de cada fruto se pesarán las semillas y se dividirán entre ellas mismas para así obtener la media estándar del peso de semilla de cada población, se utilizará una balanza analítica con un margen de precisión de 0.1mg.

Los datos obtenidos se realizaron con el programa estadístico JMP (SAS Institute, 1995). Las diferencias entre medias de las poblaciones se determinaron por medio de un análisis de varianza para evaluar las diferencias entre especies, entre morfotipos de Chile y dentro de morfotipos (poblaciones). Se realizará un análisis de varianza anidado para determinar la distribución de las cantidades relativas de variación entre morfotipos de Chile y entre morfotipos dentro de poblaciones; para cada característica medida. Con las variables medidas se efectuarán dendogramas jerárquicos de todas las colectas de Chile, obtenidas mediante el método de Ward. Con las medias de las poblaciones de las variables estudiadas se realizará un análisis de componente principales (ACP), que incluyen las 13 variables medidas. Los tipos y las poblaciones se considerarán factores aleatorios. Las comparaciones de medias se realizarán mediante la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las poblaciones de Chile (*Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., y *Capsicum chinense* Jacq.) de traspatio-jardín y criollos, presentaron diferencias significativas en las quince variables estudiadas. Dentro de cada morfotipo de Chile, las poblaciones se diferenciaron significativamente en las características medidas.

El análisis de componente principales (ACP) mostró que los tres componentes explicaron el 70.39% de la variación total. El CP1 explicó el 37.77% de la variación y estuvo determinado negativamente por las características altura de planta (APL), diámetro de tallo (DTA) y días a la floración (DFL), y positivamente por largo y ancho del fruto (LFR, AFR), peso del fruto (PFR) y número de semillas por fruto (NSF). El CP2 explicó el 21.98% de la variación y fue determinado positivamente por largo y ancho de hoja (LHO, AHO), días a la maduración (DMA) y número de lóculos (NLO). El CP3 explicó el 10.75% y fue determinado positivamente por número de frutos (NFR) y número de semillas por planta (NSP) (cuadro 7).

Las poblaciones se diferenciaron claramente en el espacio bidimensional de los componentes principales 1 y 2. El componente principal 1 distinguió a las poblaciones criollas de Chile de agua: Tlacoahuaya, la labor, el gramal y el camarón; Chile de cerro: Chile de cerro 1 y 2 y Jalapeño: panteón y las cabras, a la región de menor altura, menor diámetro de tallo, menor días a la floración, mayor largo y ancho del fruto, mayor peso del fruto y mayor número de semillas por fruto, mientras que las poblaciones de los morfotipos de traspatio-jardín Piquín alargado, Chile bola, Pico paloma blanco, Pico paloma verde y Chile garbanzo ocuparon la región opuesta. El resto de las poblaciones se distribuyeron en la región intermedia. El componente principal 2 colocó a las poblaciones de los morfotipos Habanero: Timul, Tixmehuac el limón, Tixmehuac y Yaxcabá cerro San Martín, y Jalapeño: panteón y las cabras con mayor largo y ancho de hoja, mayor día de maduración y mayor número de lóculos, caso opuesto de las poblaciones de los morfotipos Cola de rata y Costeño. De igual manera, las poblaciones de traspatio-jardín se separan agrupándose en la región izquierda, mientras que las poblaciones criollas se dispersan más en la región central-derecha, indicativo del proceso de domesticación de las poblaciones de estudio (figura 4).

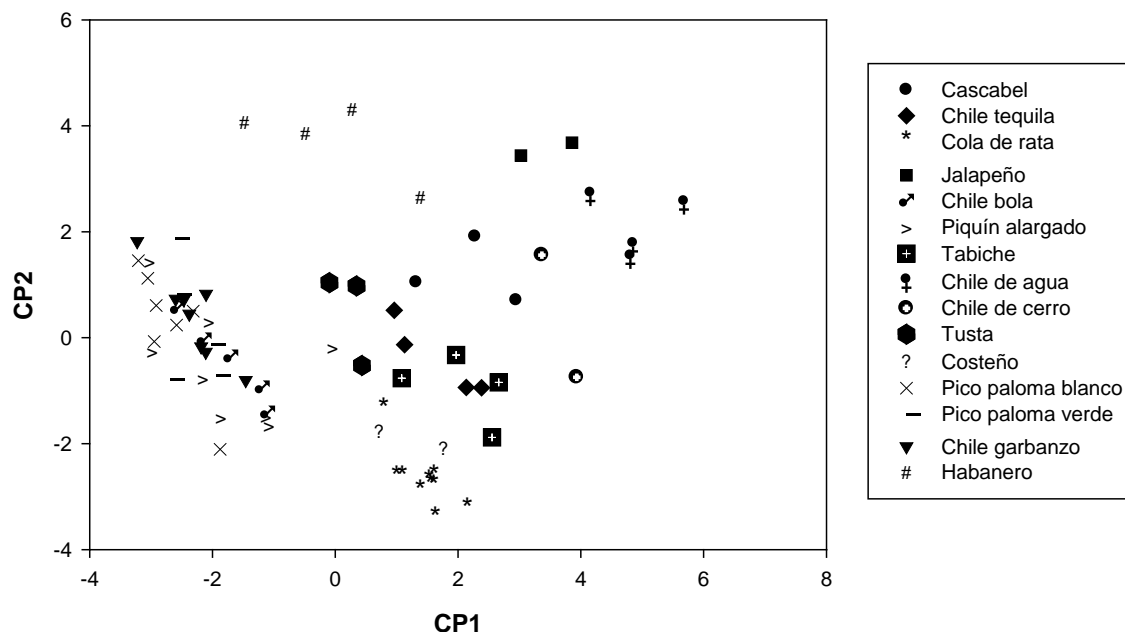
Estos resultados coinciden con los encontrados por Hernández-Verdugo et al., (2012) y Castellón-Martínez et al., (2014), donde encontraron variación morfológica entre y dentro de poblaciones de chiles silvestres, de traspatio-jardín y criollos de los Estados de Sinaloa, Sonora y Oaxaca. Hernández-Verdugo et al., (2012, 2017) mencionan que, en condiciones uniformes de crecimiento de las plantas la diferenciación observada entre las poblaciones es considerada principalmente adaptativa y a diferencias genéticas entre ellas, mientras tanto en condiciones naturales, la diferenciación entre poblaciones de la misma especie puede ser producto de una respuesta plástica a la heterogeneidad del ambiente (De Frenne *et al.*, 2013; Castillo *et al.*, 2014).

Cuadro 7. Resultados del análisis de componentes principales efectuados con 15 características en 71 poblaciones de chiles de traspatio-jardín y criollos de México. Las variables de mayor peso se presentan en negritas.

Carácter	CP1	CP2	CP3
APL (cm)	-0.31074	0.00817	-0.05529
DTA (mm)	-0.33370	0.07639	0.22900
LHO (mm)	0.03170	0.41987	0.35388
AHO (mm)	-0.12294	0.45747	0.31081
DFL	-0.31971	0.24221	0.16179
DMA	-0.22821	0.23191	-0.00914
NFR	-0.04471	-0.33232	0.58792
LFR (mm)	0.30921	-0.18059	0.07598
AFR (mm)	0.34307	0.23739	0.05426
PFR (mg)	0.34889	0.22260	0.13163
NLO	0.27615	0.30398	0.09376
LPE (mm)	-0.12079	-0.21329	0.15980
NSF	0.37422	0.04361	0.03735
PSE (mg)	0.20616	-0.04052	-0.01659
NSP	0.10604	-0.32509	0.53733

Variación explicada	37.66	21.98	10.75
Variación acumulada	37.66	59.64	70.39

Figura 4. Distribución de las 71 poblaciones de chiles de traspatio-jardín y criollos de México basado en los componentes principales 1 y 2.



CONCLUSIONES

Las especies de *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense* y *Capsicum annum*, obtuvieron variación morfológica en las variables de estudio además que en la distribución de los componentes principales se separan las poblaciones, y tanto para especies como para morfotipos. Esto nos indica que obteniendo variación entre las especies del género *Capsicum* spp. se mantiene con menos delimitantes del género y sus especies. Es por eso tan importante en seguir investigando todas las especies de este género tanto en nuestra región como de todo el país así como de nuestro continente u otros; ya que cuenta con mucho potencial genético para estudios de mejoramiento genético que pudieran resolver en un futuro.

LITERATURA CITADA

-Andreu Pal Salom. 2008. Semillas criollas: nuestra herencia y futuro. El Guacal. SIMAS pp.6-7.

- Cahill, J. P., B. Ehdai. 2005. Variation and heritability of seed mass in chia (*Salvia hispanica* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* **52**: 201-207.
- Casas, Alejandro., Caballero, Javier., Mapes, Cristina., Zarate, Sergio. 1997. Manejo de la vegetación, domesticación de plantas y origen de la agricultura en Mesoamérica. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 61: 31-47.
- Carrizo-García, C., Sterpetti, M., Volpi, P., Ummarino, M., Saccardo, F. 2013. Wild capsicums: identification and in situ analysis of Brazilian species. In: Lanteri S, Rotino GL, eds. *Breakthroughs in the genetics and breeding of Capsicum and eggplant*. Turin: Eucarpia. 205-213.
- Castro García F. Humberto., López López Porfirio S. 2005. Al rescate de la diversidad genética del chile (*Capsicum* spp) en Oaxaca, México. Memoria de la Segunda Convención Mundial del Chile. CONAPROCH. Zacatecas, Zac. México.
- Díaz Guillén Fermín. 2010. El proceso de domesticación en las plantas. Universidad Autónoma Metropolitana. Revista Casa del tiempo. Vol. 3. No. 28 pp. 66-70.
- Felde, T., H. C. Becker., C. Mollers. 2006. Genotype x environment interactions, heritability and traits correlations of sinapate ester content in winter rapeseed (*Brassica napus* L.). *Crop Science* **46**: 2195-2199.
- Gepts. 2004. Plant and animal domestication as human-made evolution. En: J. Cracraft and R. W. Bybee Eds. *Evolutionary Science and Society: Educating a New Generation*. American Institute of Biological Science, Washington, DC. 180-186.
- Gepts, P., Papa, R. 2002. Evolution during domestication. En: *Encyclopedia of Life Sciences*. Macmillan Publishers Ltd. 1-7.
- González Estrada, Tomás., Casanova Chávez, Claudia., Gutiérrez Pacheco, Luis., Torres Tapia, Luis., Contreras Martín, Fernando., Peraza Sánchez, Sergio. 2015. Chiles cultivados en Yucatán. Usos de la biodiversidad. *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*. Centro de Investigación Científica De Yucatán, A. C. www.cicy.com Cap. 7. pp. 342-344.
- Hernández-Verdugo S., R G Guevara González., R F Rivera Bustamante., C Vázquez Yanes., K Oyama K. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Cpsicum* spp.) como recursos genéticos. *Bol. Soc. Bot. Méx.* **62**: 171-181.
- Hernández-Verdugo S., R Luna-Reyes., K Oyama. 2001. Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annum* from México. *Plant Syst. Evol.* **226**: 129-142.
- Hernández-Verdugo S., González Rodríguez Antonio., Sánchez Peña Pedro., Casas Alejandro., Oyama Ken. 2006. Estructura y diferenciación genética de poblaciones silvestres y domesticadas de chile del Noroeste de México analizada con isoenzimas y RAPD's. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 29. (2): 25-29.
- Hernández-Verdugo S., Porras Flor., Pacheco-Olvera Antonio., López-España Ricardo Guillermo., Villarreal-Romero Manuel., Parra-Terraza Saúl., Osuna Encino Tomás. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annum* Var. *Glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Rev. Polibotánica*. Núm. 33 pp. 175-191.

- Hernández-Verdugo, S. 2017. El chile silvestre ecología, evolución y genética. Editorial del Colegio de Postgraduados. Ciudad de México. pp: 66.
- Infosiap. 2010. Un panorama del cultivo de chile. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. www.infosiap.siap.gob.mx. 20 p.
- Martínez-Sánchez David, Pérez-Grajales Mario, Rodríguez-Pérez Juan Enrique, Del Carmen Moreno Esaú. 2010. Colecta y caracterización morfológica de chile de agua (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. Rev. Chapingo. Serie Horticultura **16(3)**:169-176.
- Moreno Pérez, E. C., Avendaño Arrazate, C. H., Mora Aguilar, R., Cadena Iñiguez, J., Aguilar Rincon, V. H., Aguirre Medina, J. F. 2011. Diversidad morfológica en colectas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. Revista Chapingo Serie Horticultura 17: 23-30.
- Nárez-Jiménez, Carlos A., de-la-Cruz-Lázaro, Efraín., Gómez-Vázquez, Armando., Castañón-Nájera, Guillermo., Cruz-Hernández, Aldenamar., Márquez-Quiroz, César. 2014. La diversidad morfológica in situ de chiles silvestres (*Capsicum spp.*) de Tabasco, México. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 37 **3**: 209-215.
- Oyama K., Hernandez-Verdugo S., Sanchez C., González-Rodríguez A., Sánchez-Peña P., Garzón-Tiznado JA., Casas A. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. Genetic Resources and Crop Evolution **53(3)**: 553-562.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). Evolution **25**: 683-691.
- Pérez Valencia, Jony., Castañón Nájera, Guillermo. 2006. Estudio de la variabilidad morfológica entre chiles (*Capsicum spp*) silvestres, semisilvestres, y cultivados, colectados en el estado de Tabasco, México. División académica de ciencias biológicas. Kuxulkab. Revista de divulgación. Vol. 18. Núm.34. ISSN-1665-0514.
- Ramírez V. P., Ortega P. R., López H. A., Castillo G. F., Livera M. M., Rincón S. F., Zavala G. F. 2000. Recursos Fitogenéticos de México para la Alimentación y la Agricultura, Informe Nacional. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas y Sociedad Mexicana de Fitogenética A.C. Chapingo, México. 130 p.
- Rice. K. J., R. N. Mack. 1991. Ecological genetics of *Bromus tectorum* L. A hierarchical analysis of phenotypic variation. Oecologia **88**:77-83.
- Rindos. 1984. The origins of agricultura: an evolutionary perspective. Academic Press. Orlando.
- SAGARPA. 2015a. Blog. Producción del chile mexicano. www.gob.mx/sagarpa/articulos/produccion.del-chile-mexicano.
- SAGARPA. 2015b. Prensa. México líder mundial en exportación de chile. www.gob.mx/sagarpa/prensa/mexico-lider-en-exportacion-de-chile-sagarpa.
- Univerisdad del Caribe. 2016. Gastronomía. Cocina mexicana regional. Los chiles nacionales tipos y zonas principales del cultivo.
- Zhang, G., W. Zhou. 2006. Genetics analysis of agronomic and seed quality traits of synthetic oilseed *Brassica napus* produced from interspecific hybridization of *B. campestris* and *B. oleraceae*. J. Genetics **85**: 45-51.

INGESTIÓN EN LARVAS *Litopenaeus vannamei* ALIMENTADO CON MICROALGAS Y SU EFECTO EN EL DESARROLLO, CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA.

Viviana Jazmin Pardo Huerta ¹, María Alejandra Medina Jasso², Juan Francisco Arzola González³, Pablo Piña Valdez⁴, Francisco Bermúdez Lizárraga⁵ y Vianey Navarrete Maldonado⁶.

Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

pardojazmin0410@gmail.com

INTRODUCCIÓN.

En México, la acuicultura del camarón es una industria rentable, se desarrolla en los estados de Nayarit, Sinaloa y Sonora. Las principales especies criadas en las granjas de estas regiones son el camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*, ya que ha sido un crustáceo con éxito en el manejo bajo condiciones controladas. (Gaxiola, *et al.*, 2006). Alcanzando aproximadamente el desarrollo larval en 15 días (Barbarito, J., 2006). Es importante conocer el papel fundamental que juega el alimento natural en la dieta completa de especies bajo condiciones prácticas de cultivo, las microalgas se consideran una fuente importante de alimento vivo para las primeras etapas larvianas de crustáceos y juveniles de pescado (Torretera y Tacon, 1989). Las microalgas tienen diferentes aplicaciones y funciones, se han utilizados en la industria farmacéutica, cosmetología, industria de alimentos, en acuicultura, entre otras aplicaciones (Medina, *et al.*, 2015). En acuicultura existen diferentes especies de acuerdo con varios autores los principales géneros de microalgas son *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Tetraselmis*, *Chlorella*, *Thalassiosira*, e *Isochrysis*, (Treece y Yates, 1993; Lavens y Sorgeloos, 1996; Ponce, J *et al*, 2012). Estos organismos microscópicos cubren los requerimientos nutritivos en las fases larvianas, además de utilizan la energía luminosa para sintetizar sustancias orgánicas (proteínas, lípidos, carbohidratos), en las lavas de camarón la exigencia de nutrientes varía en cada uno de los estadios larvianos desde Nauplio hasta Postlarva (Chavira, 2000). La utilización de microalgas podría ser una alternativa viable ya que favorece en la reducción de costos en la alimentación artificial, según estudios pueden lograr la reducción del intercambio de agua gracias a la formación de un sustrato donde las microalgas reciclan el nitrógeno y el fósforo disueltos en las heces y en el alimento no consumido (Curbelo *et al.*, 2016).

ANTECEDENTES.

Actualmente existen diferentes especies de microalgas utilizadas para el cultivo de camarón, son utilizadas en diferentes estadios, Cervantes 2002, evaluó la tasa de alimentación entre los diferentes estadios de zoea en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* con tres especies de microalgas (*Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis sp.* y *Tetraselmis suecica*), suministradas en dietas individualmente y mixtas, reporta que para *Tetraselmis suecica* presentó una biomasa mayor en los tres estadios de zoea en comparación a los otros dos géneros de microalgas. Para las dietas mixtas obtuvo que en estadio zoea (I, II, III), tuvieron una selectividad en la alimentación al aplicar la dieta mixta de *Chaetoceros muelleri* y *Tetraselmis suecica*, presentaron mayor concentración de

biomasa. Algunos estudios se basan en el crecimiento y alta supervivencia en larvas en estadios Protozoa por lo que Mallo y Fenucci 2006 realizaron un estudio con langostino *Pleoticus muelleri*, experimentaron diferentes tratamientos el cual uno de ellos resulto favorable para el crecimiento de las larvas utilizaron las diatomeas *Chaetoceros gracilis* y *Chaetoceros calcitrans*, la razón por el cual son implementadas en estos estadios es debido al tamaño que contienen estas diatomeas permiten la ingesta en cantidades grandes para las protozoas sin provocar gasto energético en larvas de *Pleoticus muelleri*. Isordia, et al. 2007, estudiaron el efecto de una dieta monoalgal en dos presentaciones (vivas y congeladas) de *Tetraselmis spp.* aplicado a la alimentación de larva de camarón *L. vannamei*, en los estadios de Protozoa (PZI – PZIII), utilizando un control de cultivo *Chaetoceros sp* e *Isochrysis sp*, obtuvieron que la mayor supervivencia se registró con las microalgas *Chaetoceros sp* e *Isochrysis sp*. El peso orgánico de la larva de camarón blanco alimentado con *Tetraselmis sp* congelada presento mayor peso orgánico. Es importante determinar la cantidad de alimento ingerido para determinar una ración alimenticia y establecer esquemas de alimentación que satisfagan los requerimientos nutricionales de los organismos Brito et al., 2010, determinaron las tasas de filtración e ingestión en condiciones de laboratorio en la especie *Dendrocephalus spartaenovae*, utilizando un gradiente de alimento a partir de las microalgas *Pseudokirchneriella subcapita* y *Chlorella vulgaris* a diferentes edades del organismo. Reportaron la ingestión incremento al aumentar el fitoplancton, demostrando *D. spartaenovae* alcanza su tasa de ingestión a un nivel de 500×10^3 cél/ml. Medina, et al 2015 reportaron resultados favorables en la supervivencia con la alimentación de una dieta tradicional a base de microalga *Chaetoceros muelleri* y nauplios de *Artemia*, en la evaluación de la respiración y excreción amoniacal en larvas de zoea y mysis de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con dietas tradicionales (microalgas y nauplios de *Artemia*) y no tradicionales (microalgas y rotíferos). Peraza 2018, realizó un cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en estadio zoea, llevando a diferentes densidades. Utilizando la diatomea *Chaetoceros calcitrans* como alimento. Concluyó que para mayor crecimiento y biomasa fue a partir del tratamiento 1 ($200 \text{ larvas} \cdot \text{L}^{-1}$), además que la densidad puede ser uno de tantos factores que se pudieran presentar al evaluar los efectos de crecimiento e índice de desarrollo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La utilización de microalgas como alimento natural en el cultivo de larvas de *Litopenaeus vannamei*, ha sido favorable debido al contenido proteico que aportan a los cultivos de las larvas, Las microalgas son productores primarios de la cadena trófica y además son de fácil digestión por las larvas, por lo que la implementación de microalgas en la industria acuícola, puede disminuir los costos de producción sin afectar la supervivencia y el crecimiento por el alimento natural.

Pregunta de investigación:

¿Cuál de las dietas distintas a base de microalga *Rhodomonas sp*, *Tetraselmis tetraele* y *Thalassiosira sp* tendrá un mejor efecto en la supervivencia, índice de desarrollo y el crecimiento en la ingestión de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*?

HIPÓTESIS.

El cultivo larvario de *L. vannamei* alimentado con *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp, no presentarán diferencias significativas en la ingestión de microalgas, así mismo no presentará en la supervivencia, índice de desarrollo y crecimiento en las larvas de *Litopenaeus vannamei*.

Objetivo General.

- Determinar la tasa de ingestión en cultivos larvarios *L. vannamei* alimentado con tres microalgas *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp y su efecto en la supervivencia, índice de desarrollo y el crecimiento.

Objetivos Particulares.

- Determinar la tasa de ingestión de *L. vannamei* alimentadas con *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp.
- Calcular la supervivencia de larvas de *L. vannamei* alimentadas *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp.
- Evaluar el índice de desarrollo de larvas de *L. vannamei* alimentadas con *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp.
- Determinar la tasa de crecimiento de larvas de *L. vannamei* alimentadas con *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Los experimentos para este estudio se realizarán en la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Dentro de las instalaciones en el Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos y Cultivos de Apoyo, en Mazatlán, Sinaloa, México. En este laboratorio cuentan con salas de experimentación que contienen materiales para desarrollar este proyecto con sistemas de iluminación y aireación filtrados necesarios para realizar el cultivo de microalgas. En el presente estudio se utilizarán recipientes con una capacidad inicial de 4 L, ocupando solo 3 L, para este experimento de cultivo de larvas de camarón *L. vannamei* se sembrarán una densidad de 200 larvas/L, se realizará cuatro replicas por cada tratamiento y se repetirá 2 veces el experimento.

Organismos experimentales.

Los organismos experimentales serán donados de un laboratorio comercial ubicado al Sur de Sinaloa, México.

Cultivo de Microalgas.

Se utilizarán las microalgas *Rhodomonas* sp, *Tetraselmis tetrahele* y *Thalassiosira* sp. En el laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos y Cultivos de apoyo se encuentra la colección de estas cepas registrada con una clave de origen Rh-sp, Te-treta y TH-sp. *Rhodomonas* sp son algas unicelulares flageladas, corresponden a los criptofitas, con un diámetro de 9.2 y 9.9 µm (Valenzuela-Espinoza, 2005). *Tetraselmis tetrahele* son un tipo de microalgas que correspondientes de prasinofito de cuatro flagelos (Ronquillo, et al., 1997). *Thalassiosira* sp correspondiente al grupo de las diatomeas con presencia de valvas circulares, presentan areolas diferentes tamaños con criba interna y foramen

externo en algunos casos pueden presentar espinas según la especie. De acuerdo a literaturas citadas las microalgas son utilizadas como alimento vivo en etapas larvarias de erizos, ostiones, mejillones y camarones *peneidos*, también son utilizados en la alimentación para rotíferos, *Artemia* y copépodos, su implementación como alimento natural es debido al valor nutricional que aportan a estas especies.

El medio F es el medio propuesto por Guillard y Rhyter (1962), con la metodología propuesta por Voltolina, *et al* (1989). Se utilizará la relación 1:1 de agua de mar y nutriente, es decir, cada litro de agua de mar se agregarán 1 ml de nutrientes (vitaminas, metasilicatos, fosfatos, nitratos y metales traza). El agua de mar se tomará de la bahía de Mazatlán, a través de 3 filtros de cartuchos con capacidad de retención de partículas (10, 5, 1 μm de diámetro), posteriormente se pasará por un cartucho de carbón activado para eliminación de materia disuelta en el agua. El agua filtrada se desinfectará con hipoclorito de sodio comercial al 5% utilizando $1 \text{ ml}\cdot\text{L}^{-1}$ se dejará reposar 24 horas.

Para el inicio del cultivo se tomará la cantidad de medio adecuada para inocular las microalgas (volumen de 0.5 L, 3L y 16 L), se tomará agua de mar filtrada y desinfectada posteriormente se agregará 0.056 mg de tiosulfato de sodio por cada litro, con el fin de eliminar el cloro residual, se verificará la ausencia de cloro con un colorimétrico basado en el indicador ortotuluidina. Se dejará en aireación el cultivo para mantener en suspensión las células y evitar la sedimentación. Se utilizará iluminación continua, emitida por cuatro lámparas de 6000-6500 lux, que es igual un flujo de fotones de $120\text{-}130 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Teniendo el cultivo de microalgas (microalgas + agua de mar filtrada + nutrientes) se realizarán conteos con ayuda de un hematocitómetro y así obtener el crecimiento de microalgas.

Tasa de Ingestión.

La tasa de ingestión es descrita con el número de células consumidas por un solo organismos en un tiempo específico (Bautista, 1995), para obtener la tasa de ingestión será calculada por la siguiente fórmula (Pinzón, 2000):

$$IR = \frac{[(Co - Cf)V]}{n * t}$$

Donde:

IR = Ingestión. (cél /organismo/h).

Co = Concentración inicial de microalgas (cél/ml).

Cf = Concentración final de microalgas (L/ml).

V = Volumen (ml).

n = Densidad organismos/ml.

t = Tiempo experimental (hora).

Supervivencia.

Se realizará con la siguiente ecuación: $S = \frac{N_t}{N_0} \times 100$

Donde

S representa la supervivencia en %,

N_t representa el número de larvas restantes a los t días de iniciado el experimento,

N_0 es el número inicial de larvas.

Índice de Desarrollo.

Para el cálculo del índice de desarrollo se realizará con la siguiente ecuación, propuesta por Villegas y Kanazawa (1979):

$$IDL = \frac{\sum A}{N}$$

Donde:

IDL = Índice de desarrollo larvario.

A = Valores absolutos otorgados a cada uno de los estadios larvales.

N = Número de individuos observados.

Crecimiento.

Se determinarán tomando 15 larvas de cada tratamiento y repetición. Se utilizará un microscopio graduado para obtener la longitud total de la larva en cada estadio (Z1, Z2, Z3, M1, M2, M3, P1). Se fijarán con una solución fijadora, se medirá la longitud total que consiste desde la punta del rostrum hasta la punta del telson. La talla final y peso final se analizará al finalizar este experimento.

Peso seco.

En la determinación del peso seco se utilizarán filtros de 47 mm para las microalgas y de 25 mm para las larvas de camarón. Tomando una muestra representativa de microalgas y larvas, serán lavados con 3 ml de formiato de amonio al 4%, posteriormente permanecerán en una estufa a 60°C por 5 días y se tomara el peso contante (P. seco = P. filtro c/muestra – P. del filtro calibrado).

Peso Cenizas.

Se tomarán de las larvas de camarón y microalgas, obtenido el peso seco, se tomarán los filtros y se calcinarán en una mufla a 450°C por 12 horas, se tomará el peso constante de cenizas. (P. Cenizas = P. filtro c/cenizas – P. del filtro calibrado.)

Se determinará el peso orgánico (P. Orgánico = P. Seco – P. Cenizas)

Análisis proximales.

Las proteínas serán extraídas de acuerdo con el procedimiento descrito por Lowry 1951 y Los carbohidratos serán cuantificados por el método de Dubois *et al.*, 1956. Los lípidos se extraerán siguiendo el método de Bligh y Dyer 1959, y cuantificados por el método de Pande *et al.* 1963.

Análisis de datos.

Los resultados de crecimiento, supervivencia en larvas de camarón suministrando con microalgas serán comparados por un análisis de varianza-una-vía (ANOVA) las medias se compararán por prueba Tukey's. De ser el resultado no normal, se aplicará la prueba de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis. Todas las pruebas se realizarán con un nivel de significancia del 0.05 (Zar, 1996).

LITERATURA CITADA

- Barbarito, J., (2006). Evaluación de la Harina de *Spirulina ptensis* como alimento y aditivo para la producción de postlarvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur. 10 pp.
- Bautista, P.C. (1994). Crustáceos. Mundiprensa, Segunda edición. Madrid, España. 178 pp
- Brito, D., & Brito, R., y Pereira, G. (2010). Evaluación de las tasas de filtración e ingestión de *Dendrocephalus spartaenovae* (Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae) con *Pseudokirchneriella subcapita* y *Chlorella vulgaris* en condiciones de laboratorio. Interciencia, 35 (2), 126-130 pp.
- Cervantes, S, F, G, (2002). Tasa de alimentación de larvas zoea de *Litopenaeus vannamei* Boone con diferentes microalgas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa., Mazatlán, México. 16-32pp.
- Gaxiola, G., (2006) Nutrición y Domesticación de *Litopenaeus vannamei*. Avances en Nutrición Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León México, IBN970-694-333-5.
- Mallo, J. y Fenucci, J. (2006). Alimentación de protozoas del langostino *Pleoticus muelleri* Bate utilizando diferentes microencapsulados y especies de microalgas. Revista de Biología Marina y Oceanografía, (39), pp.1-5.
- Medina Jasso, A., J.F. Arzola González, P. Piña Valdez y M. Nieves Soto., (2015). Effect of the diet traditional and non-traditional on the respiration and excretion in larvae of white shrimp *Litopenaesus vannamei*. Rev.MVZ Córdoba 20 (Supl):4917-4928.
- Peraza-Tirado, J.D., (2018). Cultivo de larvas zoea de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) a diferentes densidades. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México.
- Pinzón, I. (2000). Estimación de los requerimientos alimenticios para el crecimiento del braquiopodo *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) alimentado con la diatomea *Chaetoceros muelleri* (Lemmerman) orientada a la producción masiva. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Colima. Manzanillo, México.
- Ponce, J., Ayón, D., Arredondo, J, y Castillo, S. (2012). Estrategias para el cultivo de microalgas utilizadas en la alimentación de larvas de camarón. México: AGT, 23-25
- Ronquillo, J., Matías, J., Toshio, S., y Shigehisa, Y. (1997). Culture of *Tetraselmis tetrahele* and its utilization in the hatchery production of different penaeid shrimps in Asia. Hydrobiologia, 358, 237-244.
- Torrenta, B. L. y Tacon, A. G., 1989. La producción de alimento y su importancia en acuicultura. FAO. Brasil.

- Valenzuela-Espinoza E, Lafarga-De la Cruz F, Millán-Núñez R, Núñez-Cebrero F. 2005. Growth, nutrient uptake and proximate composition of *Rhodomonas* sp. Cultured using f/2 medium and agricultural fertilizers. *Ciencias Marinas* 31:79-89.
- Villegas, C.T. y Kanazawa A., (1979). Relationship between diet composition and growth of zoeal and mysis stages of *Penaeus Japonicus* (Bate). *Fish. Res. J. of Philippines*. 4(2):32-40.
- Voltolina D., L.F. Bückle-Ramírez y E.L. Morales-Guerrero. (1989). Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas (2ª Ed.) Centro de Investigación Científica y de educación Superior de Ensenada, B.C., México. Informe Especial OC-89-01, 67 pp.
- Zar, J.H. (1996). *Biostatistical analysis*. (4ra ed.). Prentice-Hall. N.J. USA 663 p.

CONCENTRACIONES DE NaOCl Y PERIODOS DE AGITADO EN LA EXTRACCIÓN Y ECLOSIÓN DE HUEVECILLOS DE *Meloidogyne incognita*

Guillermo Gómez González¹, Moisés Gilberto Yáñez Juárez², Tirzo Paúl Godoy Angulo³, Roberto Gastélum Luque⁴, Juan Eulogio Guerra Liera⁴ y Jorge Fabio Inzunza Castro⁴.

¹Alumno del programa de MCA FA-UAS, guillermo.gomezg@icloud.com. ²Director de tesis, FA-UAS. ³Co-director de tesis, FA-UAS. ⁴Asesor de tesis, FA-UAS.

RESUMEN

En esta investigación se estudiaron diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitado de raíces de pepino en la extracción y eclosión de huevecillos en *Meloidogyne incognita*, los resultados indicaron que 5,000 y 9,000 ppm de NaOCl promovieron la extracción de huevecillos de *M. incognita*, así como los periodos de agitado entre 6 y 12 min. Entre los mejores tratamientos para la extracción de huevecillos están las combinaciones de 5000 ppm de NaOCl con 6 minutos, y 6000 ppm de NaOCl con 8 minutos de agitado. También se observó una mayor eclosión de huevecillos cuando se utilizaron 9,000 ppm de NaOCl y periodos de agitado durante 12 y 18 minutos, asimismo, la eclosión logró incrementarse con los tratamientos que poseían 9,000 ppm de NaOCl con 12 o 18 minutos de agitado de raíces.

Palabras clave: *Meloidogyne*, NaOCl, extracción, agitado, huevecillos.

ABSTRACT

In this research, different concentrations of NaOCl and agitation periods of cucumber roots were studied in the extraction and hatching of *Meloidogyne incognita* eggs, the results indicated that 5,000 and 9,000 ppm of NaOCl promoted the extraction of *M. incognita* eggs, as well as the Agitated periods between 6 and 12 min. Among the best treatments for the extraction of eggs are the combinations of 5000 ppm of NaOCl with 6 minutes, and 6000 ppm of NaOCl with 8 minutes of agitation. A greater hatching of eggs was also observed when 9,000 ppm of NaOCl and stirring periods were used for 12 and 18 minutes. Likewise, the hatching was increased with treatments that had 9,000 ppm of NaOCl with 12 or 18 minutes of root stirring.

Keywords: *Meloidogyne*, NaOCl, extraction, agitation, eggs.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Meloidogyne* spp. se caracteriza por ser de los pocos nematodos que inducen malformaciones típicas en las raíces de las plantas, conocidas comúnmente como agallas, es por ello, el nombre de nematodo agallador, este fitoparásito es el más importante por su distribución, el rango de hospedantes y los daños que induce en las hortalizas, la especie *Meloidogyne incognita* es un nematodo fitoparásito de presencia cosmopolita y el de mayor incidencia e impacto económico en campos infestados en México y en Sinaloa (Carrillo-Fasio *et al.*, 2000; Cid del Prado *et al.*, 2001). El nivel de daño que puede ocasionar en las plantas cultivadas depende de la densidad de población existente en el suelo, por tanto, la extracción y cuantificación del inóculo en suelo y raíces

constituye un aspecto muy importante en la estrategia de manejo del nematodo agallador, así como en su investigación (Greco y Di Vito, 2009). Las masas de huevecillos se pueden extraer directamente de la superficie del tejido vegetal agallado pero es difícil obtener grandes cantidades de inóculo, por otra parte, también se requiere de un tratamiento específico para liberar los huevecillos de la masa gelatinosa (Duncan y Phillips, 2009).

La agitación de las raíces infectadas por el nematodo agallador con ciertas concentraciones de NaOCl facilitan la liberación de los huevecillos a partir de las masas gelatinosas (Bird, 1968; McClure *et al.*, 1973); No obstante, el NaOCl puede afectar la estructura de los huevecillos y disminuir la viabilidad y el porcentaje de eclosión, dependiendo de la concentración usada (Hussey y Barker, 1973); al respecto en una investigación se observó que el tratamiento con NaOCl al 0.53% durante 3 min provocó porcentajes importantes de inmovilidad y ausencia de infectividad en los juveniles del género *Meloidogyne* spp. (Vrain, 1976). En cambio, en otro estudio con el 0.5% del mismo producto y 10 min de agitado resultó en mayor cantidad de huevecillos extraídos que por el método de licuado (Stetina *et al.*, 1997).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las investigaciones realizadas para la extracción de huevecillos a partir de las masas gelatinosas que están en las raíces infectadas por el nematodo agallador, se reportan diferentes concentraciones de NaOCl, y los tiempos de agitado también varían considerablemente (Vovlas *et al.*, 2005; Dong *et al.*, 2007; Djian-Caporalino *et al.*, 2011; Maleita *et al.*, 2012; Giné *et al.*, 2014; Giné *et al.*, 2017; Kayani *et al.*, 2018). Por tanto, en la realización de diferentes estudios de este parásito es importante determinar que concentraciones de NaOCl y tiempos de agitado de las raíces son mejores para la extracción y eclosión de huevecillos, así como para mantener la viabilidad de los juveniles *Meloidogyne incognita*.

III. HIPÓTESIS

Las concentraciones de NaOCl y los periodos de agitación de raíces infectadas por *Meloidogyne incognita* afectan la extracción y eclosión de huevecillos.

IV. OBJETIVO

Determinar que concentraciones de NaOCl y períodos de la agitación de raíces son los que permiten mayor extracción y eclosión de huevecillos de *M. incognita*.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Procedimiento general

El trabajo se realizó en el laboratorio de Nematodos Fitoparásitos y en el invernadero de la Facultad de Agronomía UAS. El material vegetal se obtuvo de plantas de pepino inoculadas a partir de una masa de huevecillos; las raíces agalladas se lavaron cuidadosamente, se cortaron en segmentos de 1 cm y se mezclaron en agua destilada dentro de un recipiente. Cada muestra (10 g de raíces) se mantuvo en movimiento un

tiempo determinado con un agitador magnético Hanna HI322 al 45% de velocidad dentro de un matraz de 500 mL que contenía 350 mL de la solución de NaOCl correspondiente. La temperatura de las soluciones se mantuvo alrededor de los 28 °C. Posterior a la agitación, se vació el contenido del matraz sobre tamices seriados de 75, 45 y 25 µm de aberturas de malla. Se lavó cada tamiz con agua destilada para eliminar residuos de NaOCl y se recuperó el contenido del último. A partir de cada repetición se tomaron alícuotas para el conteo de huevecillos por microscopía, posteriormente se establecieron las dos pruebas de eclosión con 10 000 y 1000 huevecillos/embudo para el primer y segundo experimento, respectivamente; las muestras se colocaron en embudos de Baermann con 75 mL de agua destilada al 2% de agua oxigenada (Hooper *et al.*, 2005), las cuales estuvieron en un ambiente privado de luz a temperatura de 18 a 22°C, rehumedeciéndolos con ayuda de un atomizador manual cada 12 h durante siete días; posteriormente se contabilizó la cantidad de juveniles recuperados.

5.2. Diseño experimental y variables evaluadas

Se utilizó el diseño completamente al azar en los experimentos de extracción y eclosión de huevecillos, así como en la evaluación de la viabilidad del inóculo. Los tratamientos para la extracción de huevecillos se establecieron bajo un arreglo de 2 factores con 3 niveles cada uno: 3 000, 6 000 y 9 000 ppm de NaOCl en la solución con periodos de agitación de raíces de 4, 8 y 12 min para el primer experimento, y de 5 000, 7 000 y 9 000 ppm con 6, 12 y 18 min para el segundo, ambos con cuatro repeticiones. En cada experimento de extracción de huevecillos se consideró la extracción total de huevecillos, de manera similar, en cada prueba de eclosión se calculó el porcentaje de huevecillos eclosionados. La viabilidad del inóculo se evaluó a través de la producción total de huevecillos encontrados en las raíces donde previamente se efectuó la inoculación con los huevecillos de cada tratamiento.

5.3 Análisis estadístico

La cantidad de huevecillos extraídos se transformó por logaritmo natural, mientras que el porcentaje de huevecillos eclosionados transformó por raíz cuadrada para cumplir la normalidad y homogeneidad de varianza (Clewes y Scarisbrick, 2001). Los datos de los dos experimentos para extracción de huevecillos y de las dos pruebas de eclosión se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) doble y prueba de medias de los mínimos cuadrados con ajuste Tukey ($\alpha = 0.05$) para comparaciones múltiples y determinar el efecto principal de cada factor y el efecto simple de su interacción (SAS v.9.1) (SAS Institute, Cary, NC). El modelo estadístico empleado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

μ = efecto medio general

α_i = efecto del i ésimo nivel de concentración de NaOCl ($i = 3$)

β_j = efecto del j ésimo nivel de periodo de agitación ($j = 3$)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = efecto de interacción entre la concentración de NaOCl y el periodo

de agitación

ε_{ijk} = error aleatorio

k = 4 repeticiones

Adicionalmente, para determinar el efecto de cada tratamiento se realizaron comparaciones de medias con la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher sobre los valores los experimentos de extracción y de las pruebas de eclosión (SAS v.9.1) (SAS Institute, Cary, NC). El modelo estadístico empleado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

μ = efecto medio general

τ_i = efecto del tratamiento (i = 9)

ε_{ij} = error aleatorio

j = 4 repeticiones

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. PRIMER EXPERIMENTO

6.1.1. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación de raíces en la extracción de huevecillos de *Meloidogyne incognita* en pepino (*Cucumis sativus* L.).

Conforme la información que aparece en el Cuadro 1, se observa que las concentraciones de 6 000 y 9 000 ppm de NaOCl permitieron una extracción de 3 458 y 3 669 huevecillos, respectivamente; cantidades que estadísticamente fueron similares entre sí, pero resultaron ser significativamente superiores ($P < 0.01$) a la obtenida con 3 000 ppm de NaOCl (2 408 huevecillos). Por otra parte, los periodos de agitado de las raíces de 8 y 12 min lograron inducir una extracción de 3 444 y 3 186 huevecillos, las cuales no mostraron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre ellas, aunque si del menor periodo de agitación, cuya cantidad fue de 2 905.

Cuadro 1. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación en la extracción total de huevecillos de *Meloidogyne incognita* en raíces de pepino (*Cucumis sativus* L.).

Factor	Nivel	Huevecillos extraídos	CV (%)
NaOCl (ppm)	3 000**	2,408 ^a b ^b	7.8
	6 000**	3,458 a	5.6
	9 000	3,669 a	3.7
Agitación (min)	4**	2,905 l	7.3
	8*	3,444 k	4.9
	12	3,186 k	3.1

**Efecto simple de la interacción al 0.01 por la prueba de mínimos cuadrados.

*Efecto simple de la interacción al 0.05 por la prueba de mínimos cuadrados.

^a Medias de huevecillos obtenidos en 12 repeticiones de ambos factores.

^b Medias de cada nivel de concentración de NaOCl seguidos de la misma letra (a-b), y medias de cada nivel del periodo de agitación seguidos de la misma letra (k-l), no son

distintos significativamente por la prueba de mínimos cuadrados con ajuste Tukey para comparaciones ($P < 0.05$).

De los tratamientos obtenidos con las diferentes combinaciones de los factores concentración de NaOCl (3 000, 6 000 y 9 000 ppm) y periodos de agitado de raíces (4, 8 y 12 min), es evidente que NaOCl (3 000 ppm) con un periodo de agitado de 4 min logró extraer la menor cantidad de huevecillos (15 000), misma que fue significativamente inferior ($P < 0.01$) a la obtenida con NaOCl (6 000 ppm) y un periodo de agitado de 4 min (22 000); por ende, esta última concentración fue mejor para extraer huevecillos que con NaOCl (3 000 ppm) durante el mismo tiempo de agitado (4 min). Sin embargo, las cantidades de huevecillos obtenidos con los dos tratamientos antes indicados, resultaron ser significativamente menores ($P < 0.01$) que con las concentraciones de NaOCl (3 000 y 6 000 ppm) a los 8 y 12 min, cuyas cantidades de huevecillos extraídas superaron los 35 000 (Figura 1). En cambio, con la mayor concentración de NaOCl (9 000 ppm), los periodos de agitación de las raíces no modificaron significativamente ($P < 0.01$) las cantidades de huevecillos obtenidos, aunque esta variable osciló entre 28 000 y 36 000. Finalmente, los tratamientos que permitieron la mayor extracción de huevecillos fueron aquellos que poseían 3 000 y 6 000 ppm de NaOCl en combinación con 8 y 12 min, así como 9000 ppm de NaOCl con 4 min de agitado de raíces.

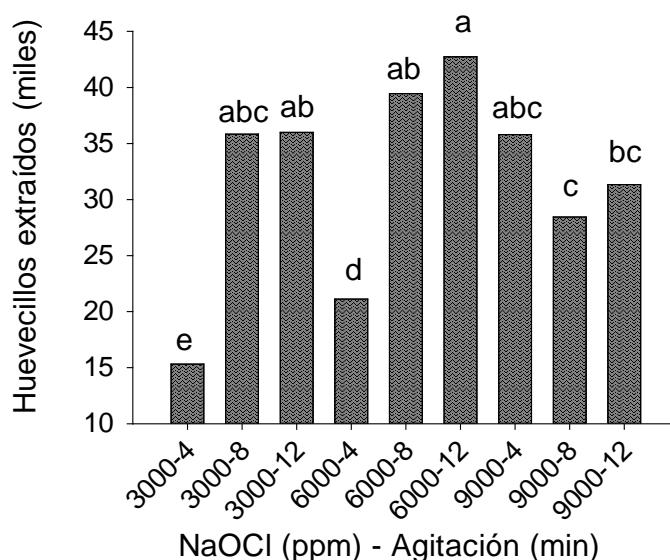


Figura 1. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación en la extracción total de huevecillos de *Meloidogyne incognita* en raíces de pepino (*Cucumis sativus* L.).

Barras con la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher.

6.1.2. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación de raíces en la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*.

La concentración de NaOCl y el periodo de agitación de las raíces influyeron significativamente ($P < 0.01$) en el porcentaje de eclosión de los huevecillos, así se tiene

que la mayor expresión de esta variable se encontró en las concentración de 9 000 ppm de NaOCl (17.1%), misma que fue superior a la observada con 3 000 y 6 000 ppm de NaOCl, cuyos porcentajes fueron 2.5 y 3.2, respectivamente. Asimismo, el periodo de agitado de de 12 min contribuyó con el 14.3% de eclosión, en tanto, con los tiempos de agitado durante 4 y 8 min se encontró que la manifestación de la variable fue menor con 1.21 y 7.31%, respectivamente (Cuadro 2). No obstante, el efecto de ambos factores debe tomarse con reserva debido a que los coeficientes de variación son muy altos, aunque esta misma tendencia se observó en el segundo experimento que se menciona a continuación.

Cuadro 2. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación de raíces en la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*.

Factor	Nivel	Huevecillos eclosionados (%)	CV(%)
NaOCl (ppm)	3 000**	2.5 ^a b ^b	73.3
	6 000**	3.2 b	73.3
	9 000	17.1 a	73.3
Agitación (min)	4**	1.2 l	75.7
	8	7.3 l	75.7
	12*	14.3 k	75.7

**Efecto simple de la interacción al 0.01 por la prueba de mínimos cuadrados.

*Efecto simple de la interacción al 0.05 por la prueba de mínimos cuadrados.

^a Medias de porcentaje de huevecillos eclosionados en 12 repeticiones de cada nivel de ambos factores.

^b Medias de cada nivel de concentración de NaOCl seguidos de la misma letra (a-b), y medias de cada nivel del periodo de agitación seguidos de la misma letra (k-l), no son distintos significativamente por la prueba de mínimos cuadrados con ajuste Tukey para comparaciones.

El mayor porcentaje de huevecillos eclosionados de *Meloidogyne incognita* se encontró donde se trataron con 9 000 ppm de NaOCl y periodos de agitado de 8 y 12 min con 20y 33%, respectivamente (Figura 2); estos resultaron ser significativamente superiores ($P < 0.01$) al resto de los tratamientos. En orden descendente aparece el tratamiento con 6 000 ppm de NaOCl y 12 min de periodo de agitado con un 7% de eclosión, porcentaje que fue estadísticamente superior solo al tratamiento que incluye la concentración más alta de NaOCl y el menor periodo de agitación; sin embargo, los demás tratamientos fueron estadísticamente similares entre sí, pero no lograron diferenciarse de aquellos que poseían 6 000 ppm de NaOCl con 12 min y la combinación de 9 000 ppm de NaOCl con 4 min de agitado. De la información anteriormente mencionada, es importante resaltar que los tratamientos que más promovieron la eclosión de los huevecillos fueron los que tenían 9 000 ppm NaOCl con 8 y 12 min de agitado de raíces.

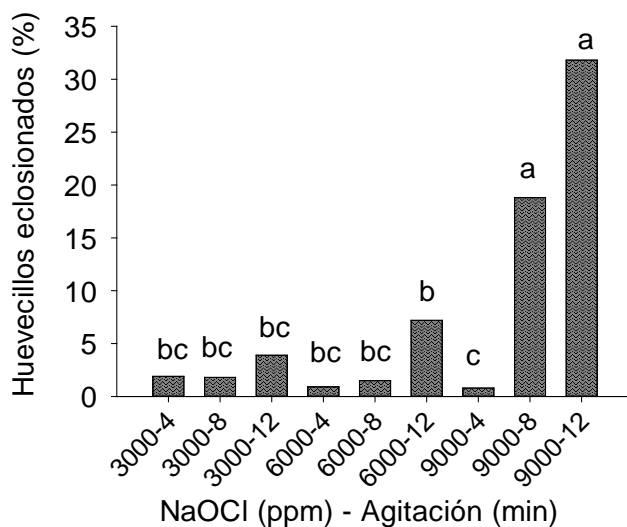


Figura 2. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación en la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher

SEGUNDO EXPERIMENTO

6.2. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación de raíces en la extracción de huevecillos de *Meloidogyne incognita* en pepino (*Cucumis sativus* L.).

La concentración de NaOCl tuvo un efecto significativo ($P < 0.01$) en la extracción de huevecillos, y conforme se incrementó se presentó una reducción en la expresión de esta variable (Cuadro 3), la mayor cantidad de huevecillos se encontró con 5 000 ppm de NaOCl (876), la cual fue significativamente superior a la observada con 7 000 ppm (754), y esta su vez resultó ser estadísticamente superior a lo observado con 9 000 ppm de NaOCl (654). En tanto, el período de agitación de las raíces por 6 min indujo significativamente ($P < 0.01$) más extracción de huevecillos (908) que con 12 y 18 minutos, cuyas cantidades fueron 687 y 689, respectivamente.

Conforme la información que aparece en la Figura 3, las combinaciones de los factores concentración de NaOCl y periodo de agitación que indujeron una mayor extracción de huevecillos de *Meloidogyne incognita* fueron aquellas que incluyeron la concentración de 5,000 ppm en los tres tiempos de agitación (6, 12 y 18 min), así como las concentraciones de 7,000 y 9,000 ppm de NaOCl con el menor periodo de agitación; estos tratamientos indujeron diferencias significativas ($P < 0.01$) en la cantidad de huevecillos obtenidos (851-982), respecto a las combinaciones de 7,000 ppm con 12 min de periodo de agitación (656) y la concentración de 9,000 ppm con 12 (625) y 18 min (603), éstos últimos tres tratamientos a su vez permitieron una mayor extracción de huevecillos que la concentración a 7,000 ppm de NaOCl con 18 min de periodo de agitación (508), que resultó ser significativamente inferior al resto de los tratamientos. De las diferentes

combinaciones de los dos factores estudiados, es evidente que la menor concentración de NaOCl (5,000 ppm) fue la que más influyó en la obtención de mayor cantidad de huevecillos del nematodo agallador extraídos de las raíces en el cultivo de pepino. Finalmente, de los diferentes tratamientos estudiados, los que lograron la mayor extracción de huevecillos fueron la concentración de 5,000 ppm de NaOCl con los tres tiempos de agitación investigados y las concentraciones de 7,000 y 9,000 ppm del producto antes indicado con el periodo de agitación de 6 min. Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden en parte con lo reportado por Stetina *et al.* (1997), quienes lograron la mayor extracción de huevecillos de *M. incognita* a partir de raíces de tomate y soya con el empleo del NaOCl a una concentración de 0.5% y un periodo de agitación de 10 min.

Cuadro 3. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación en la extracción total de huevecillos de *Meloidogyne incognita* en raíces de pepino (*Cucumis sativus* L.).

Factor	Nivel	Huevecillos extraídos	CV (%)
NaOCl (ppm)	5 000	876 ^a ^a ^b	1.8
	7 000 ^{**}	754 b	3.2
	9 000 ^{**}	654 c	3.2
Agitación (min)	6	908 k	2.4
	12 ^{**}	687 l	3.1
	18 ^{**}	689 l	2.8

^{**} Efecto simple de la interacción al 0.01 por la prueba de mínimos cuadrados.

^a Medias de huevecillos en 12 repeticiones de cada nivel de ambos factores.

^b Medias de cada nivel de concentración de NaOCl seguidos de la misma letra (a-b), y medias de cada nivel del periodo de agitación seguidos de la misma letra (k-l), no son distintos significativamente por la prueba de mínimos cuadrados con ajuste Tukey para comparaciones.

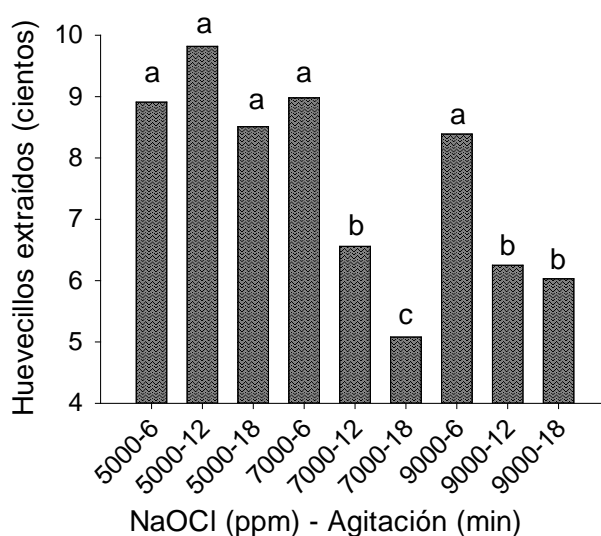


Figura 3. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación en la extracción total de huevecillos de *Meloidogyne incognita* en raíces de pepino (*Cucumis sativus* L.).

Barras con la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher

6.2.1. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación de raíces en la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*.

La concentración de NaOCl influyó significativamente en el porcentaje de eclosión de los huevecillos (Cuadro 4), donde se utilizaron 9 000 ppm del producto antes citado se presentó un 25.4%, porcentaje que fue significativamente superior ($P < 0.01$) al observado con 5 000 ppm (6.2%); pero no de la concentración de 7 000 ppm, cuya expresión de la variable fue del 17.8%. Por otra parte, el tiempo de agitado de las raíces de 18 min provocó significativamente ($P < 0.01$) más porcentaje de eclosión de huevecillos (34.5) que en los periodos de 6 min (6.1%) y 12 min (8.8%). De acuerdo con la información anterior, es obvio que la concentración de 9 000 ppm y el periodo de 18 min fueron los que más promovieron la eclosión de los huevecillos de *M. incognita*.

Cuadro 4. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación de raíces en la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*.

Factor	Nivel	Huevecillos eclosionados (%)	CV (%)
NaOCl (ppm)	5 000	6.2 ^a b ^b	39.1
	7 000*	17.8 ab	39.1
	9 000**	25.4 a	39.1
Agitación (min)	6	6.1 l	40.7
	12	8.8 l	40.7
	18**	34.5 k	40.7

**Significancia de la interacción al 0.01 por la prueba de mínimos cuadrados.

*Significancia de la interacción al 0.05 por la prueba de mínimos cuadrados.

^a Medias de porcentaje de juveniles eclosionados en 12 repeticiones de cada nivel de ambos factores.

^b Medias de cada nivel de concentración de NaOCl seguidos de la misma letra (a-b), y medias de cada nivel del periodo de agitación seguidos de la misma letra (k-l), no son distintos significativamente por la prueba de mínimos cuadrados con ajuste Tukey para comparaciones.

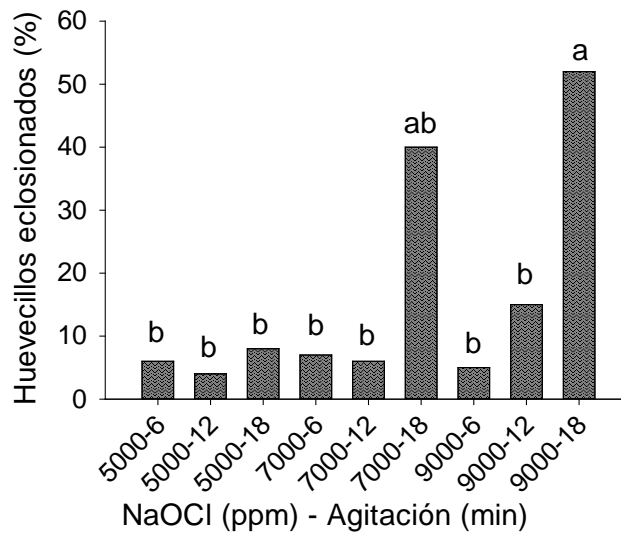


Figura 4. Efecto de diferentes concentraciones de NaOCl y periodos de agitación en la eclosión de huevecillos de *Meloidogyne incognita*. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher

El mayor porcentaje de eclosión de huevecillos se encontró con la combinación de mayor concentración de NaOCl (9 000 ppm) y el período de agitado más prolongado (18 min), el cual fue significativamente superior al detectado en los demás tratamientos, excepto al tratamiento con 7 000 ppm de NaOCl y 18 min de tiempo de agitación. De los resultados obtenidos se infiere que la concentración de 9 000 ppm de NaOCl y el tiempo de agitado de las raíces de 18 min, fueron los que más favorecieron el porcentaje de eclosión de los huevecillos.

VII CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de NaOCl que favorecieron la extracción de huevecillos *Meloidogyne incognita* fluctuaron entre 5 000 y 9 000 ppm.
2. Los periodos de agitado de las raíces entre 6 y 12 min promovieron la extracción de huevecillos.
3. El porcentaje de eclosión de los huevecillos se incrementó con 9 000 ppm de NaOCl.
4. Los periodos de agitado de las raíces durante 12 o 18 minutos indujeron mayor porcentaje de eclosión de los huevecillos.
5. Entre los mejores tratamientos para la extracción de huevecillos están las combinaciones de 5000 ppm de NaOCl con 6 minutos, y 6000 ppm de NaOCl con 8 minutos de agitado.
6. La eclosión de los huevecillos logró incrementarse con 9,000 ppm de NaOCl con 12 y 18 minutos de agitado de raíces.

VIII LITERATURA CITADA

- Bird A.F. 1968. Changes associated with parasitism in nematodes, iii. ultrastructure of the egg shell, larval cuticle and contents of the subventral glands in *Meloidogyne javanica*, with some observations on hatching. *J. Parasitol.* 54:475-489. ISSN: 00223395 DOI: 10.2307/3277069.
- Carrillo F.A., García E.R.S., Allende M.R., Márquez Z.I., Cruz O.J. 2000. Identificación y distribución de especies del nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 18: 2: 115-119. ISSN: 0185-3309 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61218208>.
- Cid del Prado V.I., Tovar S.A., Hernández J.A. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 32: 19: 32-39. ISSN: 0185-3309 <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219105>.
- Clewer A.G., Scarisbrick D.H. 2001. Practical Statistics and Experimental Design for Plant and Crop Science, John Wiley & Sons, Ltd. 346p. ISBN: 978-0-471-89908-2.
- Dong W., Holbrook C.C., Timper P., Brenneman T.B., Mullinix B.G. 2007. Comparison of Methods for Assessing Resistance to *Meloidogyne arenaria* in Peanut. *Journal of nematology*, 39: 169-175. ISSN: 0022-300X; <http://journals.fcla.edu/jon/article/view/67716>.
- Djian-Caporalino C., Molinari S., Palloix A., Ciancio A., Fazari A., Marteu N., Castagnone-Sereno P. 2011. The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. *European journal of plant pathology*, 131(3), 431. ISSN: 1573-8469; DOI: 10.1007/s10658-011-9820-4.
- Duncan L.W., Phillips M.S. 2009. Sampling Root-knot Nematodes. En: Perry R.N, Moens M, y Starr J.L. (eds) *Root-knot nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 18-54. ISBN-13: 9781845934927.
- Giné A., González C., Serrano L., Sorribas F.J. 2017. Population dynamics of *Meloidogyne incognita* on cucumber grafted onto the Cucurbita hybrid RS841 or ungrafted and yield losses under protected cultivation. *European journal of plant pathology*, 148(4), 795-805. ISSN: 1573-8469 DOI: 10.1007/s10658-016-1135-z.
- Giné A., López-Gómez M., Vela M.D., Ornat C., Talavera M., Verdejo-Lucas S., Sorribas F.J. 2014. Thermal requirements and population dynamics of root-knot nematodes on cucumber and yield losses under protected cultivation. *Plant Pathology*, 63(6), 1446–1453. ISSN: 0032-0862 DOI: 10.1111/ppa.12217.
- Greco N., Di Vito M. 2009. Population Dynamics and Damage Levels. En: Perry R.N, Moens M, y Starr J.L. (eds) *Root-knot nematodes*. CAB International, Wallingford,

UK, pp. 18-54.

- Hooper D.J., Hallmann J., Subbotin A.S. 2005. Extraction, Processing and Detection of Plant and Soil Nematodes. En: Luc, M., Sikora, R. and Bridge, J. (eds) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK. pp:53-86. ISBN: 085199727; DOI: 10.1017/S0031182005009121.
- Hussey R.S., Barker K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis. Rep.* 57, 1025-1028. ISSN: 0032-0811 <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201303126127>.
- Kayani M.Z., Mukhtar T., Hussain M.A. 2018. Interaction between Nematode Inoculum Density and Plant Age on Growth and Yield of Cucumber and Reproduction of *Meloidogyne incognita*. *Pakistan J. Zool.*, vol. 50(3), pp 897-902. ISSN: 0030-9923; DOI: 10.17582/journal.pjz/2018.50.3.897.90.
- Maleita C.M., Curtis R.H., Powers S.J., de O. Abrantes, I.M. 2012. Inoculum levels of *Meloidogyne hispanica* and *M. javanica* affect nematode reproduction, and growth of tomato genotypes. *Phytopathologia Mediterranea*, 566-576. ISSN: 00319465, 15932095 DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-9740
- McClure M.A., Kruk T.H., Misaghi I. 1973. A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. *J Nematol* 5:230. ISSN: 0022-300X; <http://journals.fcla.edu/jon/article/view/64799/62467>.
- Stetina S.R., McGawley E.C., Russin, J.S. 1997. Extraction of root-associated *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis*. *Journal of Nematology* 29, 209–215. ISSN: 0022-300X <http://journals.fcla.edu/jon/article/view/66896/64564>.
- Vovlas N., Rapoport H.F., Jimenez-Diaz R.M., Castillo P. 2005. Differences in feeding sites induced by root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in chickpea. *Phytopathology* 95:368–375. ISSN: 0031-949X; <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-0368>.
- Vrain T.C. 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. *Journal of Nematology* 9:249-251. ISSN: 0022-300X <http://journals.fcla.edu/jon/article/view/65023>.

UTILIZACIÓN DE PLACAS DE POLIMETILMETACRILATO EN OSTEOSÍNTESIS DE FRACTURAS DE RADIO Y ULNA EN CANINOS DE TALLA PEQUEÑA

MVZ Yesenia Osuna Ramos 1, Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, MC José Ascención Pérez Corrales¹, Dra. Nohemí Castro del Campo¹ y Dra. Idalia Enríquez Verdugo¹

Maestría en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Universidad Autónoma de Sinaloa
yeseniaosunar@gmail.com

RESUMEN

Las fracturas de radio y ulna en perros de talla pequeña son muy comunes y representan un reto quirúrgico, debido a que por anatomía, la reparación ósea puede presentar diversas complicaciones, por esto, el método empleado en la osteosíntesis de fractura debe elegirse cuidadosamente. Las placas de tipo metálico proporcionan mayor estabilidad para la consolidación ósea, pero tienen un costo elevado, limitando su utilización, por lo que en este experimento se quiere emplear un biomaterial en forma de polímero, el polimetil-metacrilato (PMMA), para fabricar placas con finalidad de estabilizar fracturas radio ulnares. El objetivo de este trabajo será evaluar la respuesta funcional, radiográfica y clínica de las placas de PMMA en comparativa con las placas de tipo metálico, determinar las diferencias que generan y la aceptación que tiene por parte del paciente, esperando encontrar una respuesta similar en ambas placas, dichas serán colocadas en 20 caninos, divididos en 2 grupos de 10 perros cada uno, para su valoración. A pesar de que el PMMA ya ha sido empleado en forma de placa, aun no se conoce si en radio y ulna será funcional debido a sus características anatómicas; sin embargo, a pesar de observarse respuestas favorables para el organismo, en trabajos experimentales y ser más económicos, no son usados de manera cotidiana debido a que no hay suficiente información clínica y experimental que respalde su empleo a largo plazo, por lo que se recomienda realizar más investigación.

Palabras clave: Radio y ulna, Perros, Osteosíntesis, Polimetil-metacrilato, PMMA

USE OF POLYMETHYL-METACRYLATE PLATES IN OSTEOSYNTHESIS OF RADIO AND ULNA FRACTURES IN SMALL CANINE

ABSTRACT

Radius and ulna fractures in small dogs are very common and represent a surgical challenge, because by anatomy, bone repair can present various complications, therefore, the method used in fracture osteosynthesis must be chosen carefully. Metallic type plates provide greater stability for bone consolidation, but have a high cost, limiting their use, so in this experiment we want to use a biomaterial in the form of a polymer, polymethyl-methacrylate (PMMA), to make plates in order to stabilize ulna radio fractures. The objective of this work will be to evaluate the functional, radiographic and clinical response of the PMMA plates in comparison with the metallic type plates, to determine the differences they generate and the acceptance that they have on the part of the patient,

hoping to find a similar response in both plates, said will be placed in 20 canines, divided into 2 groups of 10 dogs each, for evaluation. Although the PMMA has already been used in the form of a plate, it is still not known if in radio and ulna it will be functional due to its anatomical characteristics; However, in spite of observing favorable responses for the organism, in experimental works and being more economical, they are not used on a daily basis because there is not enough clinical and experimental information to support their long-term use, so it is recommended perform more research.

Key words: Radius and ulna, dogs, osteosynthesis, Polymethyl-methacrylate, PMMA

INTRODUCCIÓN

Los huesos desempeñan un papel esencial en el organismo, como es la protección, reservorio químico y mineral (Lin et al., 2016); cuando el hueso sufre una lesión es probable que se produzca una fractura o dislocación, generando problemas biomecánicos (Parisi y Jupiter, 2016) y por ende la dificultad de realizar las funciones motrices de manera adecuada. Cuando un hueso se encuentra fracturado es necesario realizar la osteosíntesis para su reparación, dicho procedimiento consiste en la fijación quirúrgica de fragmentos óseos fracturados, o el refuerzo profiláctico del hueso (Cáncer, 2011), esta puede realizarse a través de métodos de fijación externa con aparatos de fijación esquelética o, en su caso, métodos de fijación interna, utilizando placas con tornillos y/o clavo intramedular (Parashar y Sharma, 2016). Las fracturas del radio, ulna, o ambos huesos suelen considerarse juntas, ya que en la gran mayoría de los casos se observan fracturas concurrentes de ambos huesos (Harasen, 2003a). Constituyen aproximadamente del 16 al 18% de todas las fracturas en perros (Boudrieau, 2003; Egger et al., 1993; Harasen, 2003b) y representa la tercer fractura de hueso largo más frecuente en caninos (Boudrieau, 2003, Brianza et al., 2006; Egger et al., 1993). El tipo de fractura presentada con mayor frecuencia en el antebrazo es la oblicua corta (Harasen, 2003c; Muir, 1997) del tercio o diáfisis distal del radio y ulna (Gilbert, Ragetly y Boudrieau, 2015; Harasen, 2003c; Piras et al., 2011). Se observan con mayor frecuencia en perros de razas pequeñas como lesiones resultantes de caídas o saltos (Brianza et al., 2006; Harasen, 2003c; Muir, 1997), el caso típico de la mascota que salta de los brazos del propietario. Aunque son posibles fracturas abiertas, conminutas o ambos tipos de fracturas, son poco frecuentes (Harasen, 2003a).

La curación de fracturas generalmente se realiza de manera ordenada, cuando están presentes componentes biológicos y mecánicos apropiados para su reparación (Millis y Jackson, 2006), algunos de los factores que pueden dificultar la respuesta vascular y, por lo tanto, la curación ósea son: manejo quirúrgico descuidado o inadecuado de los tejidos blandos, osteosíntesis inadecuada y estabilización inadecuada de fragmentos óseos (Piermattei, Flo y DeCamp, 2006). El proceso de reparación de la fractura involucra cuatro etapas: formación de hematoma, formación de callo fibrocartilaginoso, formación del callo óseo y remodelación ósea (Akers y Denbow, 2013). La velocidad de consolidación, que a menudo dura semanas, permite al cirujano ortopédico determinar el tiempo esperado para observar la unión, sin embargo, el tiempo va depender de factores como la edad y condición general del paciente. No obstante, si la fractura no tiene signos de actividad radiográfica o formación de callo óseo en el tiempo esperado, se deben considerar

condiciones como unión tardía o no-unión (Jackson y Pacchiana, 2004). Existe otro tipo de complicaciones como la osteomielitis, el aflojamiento del implante y la inestabilidad de la fractura, que pueden ocasionar problemas de la no unión o unión retardada de la fractura (Millis y Jackson, 2006).

En la osteosíntesis, los métodos de estabilización no rígidos utilizados en fracturas de radio y ulna, como la aplicación de moldes, férulas o utilización de clavos intramedulares sin otro implante, tienen una tasa de complicaciones mayor de del 80% (Harasen, 2003c; Lappin et al., 1983; Muir, 1997). Entre los métodos para osteosíntesis interna, empleados fracturas diafisarias en perros pequeños se incluyen placas de compresión dinámica pequeñas (DCP), placas de compresión dinámica de contacto limitado (LC-DCP) y placas de corte veterinarias (VCP) (Hammel et al., 2006).

Un biomaterial en terminología médica es "cualquier material natural o sintético (que incluye polímero o metal) destinado a la introducción en tejido vivo, especialmente como parte de un dispositivo médico o implante (Bhat y Kumar, 2013), su uso está aumentando cada vez más en cirugía ortopédica y traumatología (Ramakrishna et al., 2001), se dividen en tres grandes categorías: los metales, que son utilizados principalmente en osteosíntesis y las artroplastias, las cerámicas, como superficies de fricción o de osteoconducción y los polímeros, con diversas aplicaciones (Marchetti et al., 2010).

Los polímeros son materiales orgánicos que forman grandes cadenas constituidas por muchas unidades repetitivas, se utilizan ampliamente en los componentes de reemplazo (Rodríguez, 2019), los más utilizados son: 1) Polietileno de peso molecular ultra alto, 2) Polimetil-metacrilato (cementos óseos acrílicos), 3) Poliéter éter termoplástico (PEEK) y 4) Bio-absorbibles (Rodríguez, 2009). Sin embargo, a pesar de los resultados clínicos y anatómo-fisiológicos positivos obtenidos, aún queda duda para su utilización en la práctica médica, por falta de datos de apoyo clínico y experimental que determinen su durabilidad y fiabilidad de largo plazo en el organismo (Ramakrishna et al., 2001).

El Polimetil-metacrilato (PMMA), en veterinaria convencionalmente se emplea como barra estabilizadora-conectora en la reducción de fracturas (Cavero y Fernández, 2005), también como cemento óseo (Hettlich, Fosgate y Litsky, 2017; Prada et al., 2017), prótesis no metálicas para hueso en forma de placa (Cardona et al., 2011; Doijode et al., 2018; Giraldo et al., 2010) y como tratamientos de osteomielitis, mediante perlas impregnadas de antibiótico (Azuara et al., 2019). A pesar de que carece de propiedades biológicas y osteo-conductividad, es el material de relleno más usado (Oryan et al., 2018).

Experiencia veterinaria con el uso de placas de PMMA en osteosíntesis de fracturas de huesos largos tiene pocos reportes sobre su utilización, sin embargo dichos experimentos han proporcionado resultados favorables del implante en el organismo animal, generando buena funcionalidad y sin reacción inflamatoria que limite su utilización (Cardona et al., 2011; Giraldo et al., 2010 y Murkherjee et al., 2008).

Murkherjee et al. (2008) compararon la funcionalidad de diferentes implantes en 24 caninos con fracturas de fémur diafisaria: 1) Clavo intramedular (IM), 2) Placa de acero, 3) Placa PMMA y 4) Clavo IM bloqueado; donde usar placas de PMMA favoreció el regreso temprano de la funcionalidad del miembro afectado, en tanto que el PMMA fabricado junto con la placa de acero, mostraron una desaparición radiográfica más

temprana de las líneas de fractura y una formación más temprana del callo; concluyendo que las placas de PMMA mostraron buenos resultados para el manejo de la fractura transversal de fémur canino. Giraldo et al. (2010) describieron, clínica y radiológicamente, la utilización de placas para osteosíntesis fabricadas con PMMA, colocadas en la tibia de 6 caninos no fracturados, y fueron retiradas ocho semanas después, sin mostrar algún tipo de alteración, y a su retiro, tampoco hubo signos de reacción inflamatoria aguda o crónica en los tejidos blandos adyacentes o en la unión de la placa con el periostio. Cardona et al. (2011) evaluaron la resistencia de un prototipo de placa de compresión dinámica fabricada con PMMA en 6 huesos femorales de canino osteotomizado con fractura oblicua, se determinando que tienen la suficiente fuerza para estabilizar fracturas de huesos largos. Doijode et al. (2018) realizaron una evaluación comparativa en 12 cabras con fracturas de tibia transversas y oblicuas, dividiendo el estudio en dos grupos: empleando placas de corte veterinario en diáfisis distal (VCP) y placas de PMMA impregnadas con malla de polipropileno, para corregir fracturas en diáfisis media; concluyendo que las placas de PMMA impregnadas, tienen suficiente resistencia para proporcionar estabilidad a esta tipo de fracturas, y las VCP proporcionaron ligeramente mayor estabilidad, indicando que ambas son recomendables. Harsha (2013) utilizó conejos con fractura de fémur, de tipo transversal y diafisaria, empleando tres grupos con ocho conejos cada uno; 1) Control: IM, 2) Implante de clavo fabricado con PMMA y 3) Implante de Hidroxiapatita, concluyendo que la mejor respuesta para la reparación de la fractura fue generada por la aplicación del implante de PMMA.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las fracturas de radio y ulna en perros de razas pequeñas son muy frecuentes y su osteosíntesis representa un reto para el cirujano en la elección del implante quirúrgico a utilizar, puesto que en zonas con escasa masa muscular, la neovascularización se produce muy lentamente, aumentando las posibilidades una no unión o unión retardada de las fracturas en la zona. Entre las diferentes técnicas recomendadas para realizar la osteosíntesis de este hueso, utilizar placas ortopédicas favorecerá el proceso de reparación, sin embargo, aumentará el gasto para el propietario debido a su elevado costo. Las fracturas de radio y ulna representan el 12.1 % del total de fracturas de los pacientes del HVPE-UAS evaluado durante los últimos 5 años, y al ser cirugías costosas en diversas ocasiones los propietarios no pueden pagar, por este motivo se decide optar en utilizar implantes quirúrgicos más económicos, propiciando resultados no tan favorables en la recuperación de los pacientes, o bien deciden no operar a las mascotas perjudicando su calidad de vida; por esta razón se han buscado alternativas no tan costosas y que proporcionen la rigidez y estabilidad de las placas de compresión dinámica para obtener osteosíntesis de radio y ulna más exitosas.

HIPÓTESIS

La osteosíntesis de fracturas de radio y ulna utilizando placas de polimetil-metacrilato, presenta una evolución clínica, radiográfica y respuesta funcional similar a la obtenida con las placas metálicas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la respuesta funcional, radiográfica y clínica de placas fabricadas con PMMA utilizadas en osteosíntesis de radio y ulna de caninos de talla pequeña, en pacientes fracturados tratados en el HVPE-UAS, en el periodo de mayo 2019 a mayo del 2020.

Específicos:

- Comparar los resultados obtenidos entre osteosíntesis de pacientes con placa de polimetil-metacrilato vs placas metálicas.
- Identificar la funcionalidad de las placas de polimetil-metacrilato como alternativa con menor costo para osteosíntesis de radio y ulna.
- Determinar y comparar los costos generados en dichas cirugías.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio será de tipo experimental realizado en el HVPE-UAS, en pacientes fracturados que asistan a consulta en el periodo de marzo 2019 a mayo 2020, incluyendo pacientes de clínicas particulares, serán perros de talla pequeña, sanos, de cualquier raza, sexo, con edad de 6 meses a 7 años, condición corporal normal, hembras no gestantes, que muestran fractura diafisaria distal en radio/ulna, transversa u oblicuo; evaluada por estudio radiográfico ortogonal (cráneo-caudal y medio-lateral). Se dividirá en 2 grupos, de 10 pacientes cada uno, en el primer grupo se realizará osteosíntesis empleado placa metálica para la reparación de la fractura, en el segundo grupo se emplearán placas fabricadas con PMMA para la osteosíntesis. Se realizará procedimiento quirúrgico convencional y se asignarán a los pacientes a jaulas durante 10 días para su valoración clínica, radiográfica y funcional de las placas empleadas. Se evaluará la formación de callo óseo por medio la escala de Montoya (1997) a 2, 4, 8, y 12 semanas posteriores a la cirugía, y se valorará el grado de consolidación ósea en cada revisión.

LITERATURA CITADA

Lin, Z. X., Xu, Z. H., An, Y. H. y Li, X. 2016. In situ observation of fracture behavior of canine cortical bone under bending. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 62, 361-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.061>

Parisi, T. J. y Jupiter, J. B. 2016. Fractures of the proximal radius and ulna: Monteggia injuries. In: GREIWE, R. M. (ed.) *Shoulder and Elbow Trauma and its Complications*. Woodhead Publishing. 193-222. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-450-5.00009-5>

Cancer, E. O. 2011. Osteosynthesis. In: SCHWAB, M. (ed.) *Encyclopedia of Cancer*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-16483-5>

Parashar, S. K. y Sharma, J. K. 2016. A review on application of finite element modelling in bone biomechanics. *Perspectives in Science*, 8, 696-698. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pisc.2016.06.062>

Harasen, G. 2003a. Common long bone fractures in small animal practice — Part 1. *The Canadian Veterinary Journal*, 44(4), 333–334. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372259/>

Boudrieau, R. J. 2003. Fractures of the radius and ulna. In: SLATTER (ed.) Textbook of Small Animal Surgery. 3era ed. Philadelphia: Saunders. ISBN: 9780721686073

Egger, E. L., Gottsauner, F., Palmer, J., Aro, H. T. & Chao, E. 1993. Effects of axial dynamization on bone healing. *J. Trauma*, 34, 185-92. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8459454>

Harasen, G. 2003b. Common long bone fracture in small animal practice — Part 2. *The Canadian Veterinary Journal*, 4(6), 503–504. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC340183/>

Brianza, S. Z. M., Delise, M., Maddalena, F. M., D'Amelio, P. & Botti, P. 2006. Cross-sectional geometrical properties of distal radius and ulna in large, medium and toy breed dogs. *Journal of Biomechanics*, 39, 302-311. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2004.11.018>

Harasen, G. 2003c. External coaptation of distal radius and ulna fractures. *The Canadian Veterinary Journal*, 44(12), 1010–1011. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC340379/>

Muir, P. 1997. Distal antebrachial fractures in toy-breed dogs. *Compend Contin Educ Pract Vet* 19, 137-145. ISSN 0193-1903

Gibert, S., Ragetly, G. R. y Boudrieau, R. J. 2015. Locking compression plate stabilization of 20 distal radial and ulnar fractures in toy and miniature breed dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 28, 441-7. DOI: <https://doi.org/10.3415/VCOT-15-02-0042>

Piras, L., Cappellari, F., Peirone, B. y Ferretti, A. 2011. Treatment of fractures of the distal radius and ulna in toy breed dogs with circular external skeletal fixation: a retrospective study. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 24, 228-35. DOI: <http://dx.doi.org/10.3415/VCOT-10-06-0089>

Millis, D. L. y Jackson, A. M. 2006. Uniones demoradas, no uniones y maluniones. In: SLATTER (ed.) *Tratado de Cirugía en Pequeños Animales* 3er ed. Buenos Aires: Inter-Médica. ISBN: 9505553080

Piermattei, D. L., Flo, G. L. y DeCamp, C. E. 2006. *Manual de ortopedia y reparación de fracturas en pequeños animales*, 4ta ed. Elsevier. ISBN: 978-950-555-330-3

Akers, M. R. y Denbow, M. D. 2013. *Bones and Skeletal System Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. 2da ed. Iowa, USA: Wiley-Blackwell. 133-168. ISBN: 978-1-118-35638-8

Jackson, L. C. y Pacchiana, P. D. 2004. Common complications of fracture repair. *Clinical Tech Small Animal Practice*, 19, 168-179. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ctsap.2004.09.008>

Lappin, M. R., Aron, D. N., Herron, H. L. y Malnati, G. 1983. Fractures of the radius and ulna in the dog. *The Journal of the American Animal Hospital Association (USA)*, 19, 643–650. ISSN: 0587-2871

Hammel, S. P., Pluhar, E. G., Novo, R. E., Bourgeault, C. A. y Wallace, L. J. 2006. Fatigue Analysis of Plates Used for Fracture Stabilization in Small Dogs and Cats. *Veterinary Surgery*, 35, 573-578. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-950X.2006.00191.x>

Bhat, S. y Kumar, A. 2013. Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. *Biomater*, 3, e24717. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/biom.24717>

Marchetti, E., May, O., Girard, J., Hildebrand, H. F., Migaud, H. & Pasquier, G. 2010. Biomateriales en cirugía ortopédica. *EMC- Técnicas Quirúrgicas - Ortopedia y Traumatología*, 2, 1-24. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0000-0000\(10\)57845-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0000-0000(10)57845-8)

Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E. & Leong, K. W. 2001. Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. *Composites science and technology*, 61, 1189-1224. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(00\)00241-4](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(00)00241-4)

Rodríguez, G. F. Á. 2009. Chapter 1. Introduction to Biomaterials in Orthopaedic Surgery. *Biomaterials in orthopaedic surgery*. Ohio: ASM International. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0151>

Cavero, A. y Fernández, A. 2005. Utilización del acrílico dental (metil metacrilato) como barra estabilizadora-conectora para reducciones cerradas en fracturas de tibia/peroné o radio/cúbito en caninos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 16, 17-23. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v16i1.1523>

Hettlich, B. F., Fosgate, G. T. y Litsky, A. S. 2017. Biomechanical Comparison of 2 Veterinary Locking Plates to Monocortical Screw/Polymethylmethacrylate Fixation in Canine Cadaveric Cervical Vertebral Column. *Vet Surg*, 46, 95-102. DOI: <https://doi.org/10.1111/vsu.12581>

Prada, T. C., Shimano, A. C., Chung, D., Karcher, D. E. y Minto, B. W. 2017. Mechanical analysis of transversal iliac fracture stabilization using dynamic compression plate or screws and PMM in polyurethane bone model. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69, 901-907. DOI: dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8434

Cardona, L., Brousse, M., Mieres, M., Arias, S. y Gutiérrez, É. 2011. Evaluación de la resistencia de un prototipo de placa de compresión dinámica (PCD) fabricada de polimetilmetacrilato (PMMA) probada en fémur canino osteotomizado. *Revista de Medicina Veterinaria*, 13-24. , ISSN 0122-9354 URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n21/n21a02.pdf>

Doijode, V., Desai, D. y Bhari, S. 2018. Comparative Evaluation of Veterinary Cuttable Plate and Polypropylene Mesh Impregnated PMMA Plate for Fracture Repair of Tibia Bone in Goats. *International Journal of Livestock Research*, 8, 160-169 DOI: <https://doi.org/10.5455/ijlr.20170731051307>

Giraldo, C. A., López, H. J. P. y Silva, M. R. F. 2010. Descripción clínica del uso de placas ortopédicas fabricadas con polimetil-metacrilato (PMMA) para huesos largos en caninos. *vet. zootec*, 4, 15-18.

URL: <http://vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v4n2a03.pdf>

Mukherjee, P., Ghosh, D., Roy, S., Basu, S. y Murkherjee, P. 2008. Management of femur fractures with self-made polymethylmethacrylate plates, stainless steel plates, intra-medullar pins and interlocking nails in dogs. *West Bengal University of Animal and Fishery Sciences*, 37. URL: http://www.priory.com/vet/dog_bone_fixation.htm

Oryan, A., Alidadi, S., Bigham-Sadegh, A. y Moshiri, A. 2018. Healing potentials of polymethylmethacrylate bone cement combined with platelet gel in the critical-sized radial bone defect of rats. *PLoS One*, 13, e0194751. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194751>

Harsha, V. K. 2013. Studies on Polymethylmethacrylate and Hidroxyapatite Implants for Fracture Healing in Rabbits. SRI Venka Teswara Veterinary University Tirupati –517 502.(AP) India.

URL: <http://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/5810027099>

Montoya, A.J. (1997). Tratamiento de las fracturas de la diáfisis tibial. Tesis de recepción de grado. México DF, IMSS-UNAM; 28-30

ESTRATEGIAS DE EXPLOTACIÓN DEL RECURSO PECES MARINOS DE ESCAMA CAPTURADO POR LA PESQUERÍA RIBEREÑA DE MAZATLÁN, SINALOA.

María de los Ángeles Maldonado-Amparo 1, Jorge Saúl Ramírez-Pérez², Rebeca Sánchez-Cárdenas², Luis Antonio Salcido-Guevara², Emigdio Marín-Enríquez³, Justo Tomas Bayle-Sempere⁴.

1Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias del Mar, 2Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, 3CONACyT- Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, 4Facultad de Ciencias, Universidad de Alicante.

INTRODUCCIÓN

En México, la flota ribereña está conformada por 73 725 embarcaciones menores registradas (CONAPESCA, 2014), además de las embarcaciones que operan de manera ilegal, la cual representa del 40 al 60% del total (Cisneros-Mata et al., 2013). La tripulación de esta flota se conforma por dos o tres pescadores por lo que al menos 206 430 personas dependen directamente de esta actividad. Es por eso por lo que la pesca ribereña representa un importante sector generador de empleo con un gran impacto social y económico para las comunidades que habitan a lo largo de las costas.

La pesquería ribereña es considerada como una pesquería multiespecífica por la gran diversidad de especies que se capturan. Particularmente, la pesquería de escama está sustentada por casi 300 especies de peces (DOF, 2010) y representa una gran complejidad por el uso de una amplia diversidad de artes de pesca, el modo de operación y las especies objetivo, además, las especies capturadas presentan una gran diversidad de historias de vida, por lo que gestionar este recurso pesquero de manera sostenible y efectiva es un desafío importante que exige la comprensión integral de las medidas biológicas, ecológicas, sociales y económicas de todas las especies explotadas (King y McFarlane, 2003; Tzanatos et al., 2005; Espinoza-Romero et al., 2014).

Una herramienta útil e importante para comprender la complejidad de las pesquerías es la identificación de metiers, los cuales se conforman por la combinación de las artes de pesca y especies objetivo en un área específica (Tzanatos et al., 2005; Anderson et al., 2012), considerando además el comportamiento de los pescadores a los cambios de la disponibilidad del recurso y las condiciones del mercado ya que estos forman parte del sistema (Forcada, 2009; Anderson et al., 2012).

En este contexto y dada la preocupación de los manejadores pesqueros por regular la pesquería de manera eficiente, se han realizado diversos trabajos para intentar separar el recurso por unidades de gestión y caracterizar la pesquería ribereña, tratando de comprender la dinámica espacial y temporal, el uso de las diferentes artes de pesca y no

menos importante, el comportamiento de los pescadores (Branch, 2006; Andersen et al., 2012).

Espinoza-Romero et al. (2014) en su caso de estudio de las pesquerías artesanales en Puerto Libertad, Sonora, mediante un enfoque ecosistémico y holístico, plantea un manejo adaptativo de la pesquería debido a la gran complejidad que presenta. Dicho estudio involucra como parte importante la opinión de los pescadores, científicos y manejadores pesqueros, lo cual muestra una colaboración multidisciplinaria.

Para entender la forma de operar de los pescadores ribereños en esta compleja pesquería, en Yucatán, México, se realizó un trabajo sobre el rendimiento económico de la actividad pesquera. Para ello, se analizaron los ingresos y costos de los viajes de pesca separados por características similares tal como: especie objetivo, arte y zona de pesca (métiers), en donde obtuvieron resultados favorables ya que el valor de la captura fue más alto que los costos variables de operación (Monroy et al., 2018).

En este contexto, el presente trabajo trata de generar información necesaria para identificar los métiers utilizados en todo el año y separar unidades de gestión no solamente por afinidad de hábitat sino también por otros atributos que influyan en la vulnerabilidad de las especies tales como atributos biológicos (rasgos de historia de vida), ecológicos (hábitat), tecnológicos (artes de pesca y tipo de embarcación), sociales y económicos, para proponer estrategias de explotación pesquera que mejore el beneficio económico para los pescadores de la región.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La pesca de escama es una pesquería que está sujeta a la captura de casi 300 especies de peces, utilizando diferentes artes de pesca, diferentes áreas y temporadas de pesca con especies objetivo diferentes. Dada la complejidad de esta actividad, es difícil gestionar este recurso pesquero de manera sostenible y efectiva, prueba de ello es que en la actualidad no se cuenta con medidas de regulación para esta pesquería. El presente trabajo pretende proponer estrategias de explotación que maximice el aprovechamiento del recurso de manera sostenible y al mismo tiempo el rendimiento económico de los pescadores.

HIPÓTESIS

Las estrategias de explotación planeadas a partir de unidades de gestión, incrementa el beneficio económico con respecto al modo de explotación actual de la escama marina.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar y definir estrategias de explotación a partir de unidades de gestión en la pesquería de escama marina en Mazatlán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Describir la composición del recurso “peces marinos de escama” capturado por la pesquería ribereña de Mazatlán, Sinaloa.

Identificar los metiers utilizados en la pesquería ribereña de Mazatlán, Sinaloa.

Definir unidades de gestión con base al metier

Diseñar estrategias de explotación de acuerdo con las unidades de gestión.

Simular y valorar las estrategias de explotación para obtener las más eficientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

Se cuenta con datos de biometrías del recurso peces marinos de escama (Lt, cm y peso, g) capturados por la pesquería ribereña de Mazatlán, Sinaloa y con datos de esfuerzo pesquero aplicado a la actividad (tipo de embarcación, arte de pesca y sus medidas, número de pescadores por embarcación y captura total por especie). Estas bases de datos corresponden a una serie temporal de tres años (2015-2017). Para afinar algunos datos de los muestreos, se seguirá muestreando por un periodo de un año (septiembre de 2018 a noviembre de 2019). Los muestreos se realizarán en los desembarques de las capturas comerciales en los campos pesqueros de Playa Norte e Isla de la Piedra en Mazatlán, Sinaloa.

Para el muestreo se tomarán como base las bitácoras ya diseñadas en donde se registrarán la longitud total (Lt, cm) y el peso total (Pt, g) de 10 organismos cada semana de las especies disponibles, para ello se utilizará como instrumentos un ictiómetro de madera de 1 m con precisión de 1 mm y una balanza con capacidad de 45 kg con precisión de 1g. También, se registrará el esfuerzo pesquero, nombre y tipo de embarcación, hora de arribo, captura total por especie y por embarcación, arte de pesca y sus medidas, zona de pesca y número de pescadores por embarcación y un dato adicional del precio del producto.

Descripción de la composición del recurso peces marinos de escama

Durante las visitas a campo, se colectarán los especímenes de peces que son capturados por la pesquería ribereña de Mazatlán, Sinaloa, mismos que serán identificados a nivel especie. Las especies se identificarán utilizando las claves taxonómicas de Fischer et al. (1995), Nelson et al. (2016), la plataforma electrónica de Robertson y Allen (2015) y la base de datos ictiológicos de FishBase (Froese y Pauly, 2018) y de ser necesario, se realizarán consultas en colecciones ictiológicas. Una vez identificadas las especies, se hará un listado sistemático considerando los lineamientos de clasificación de Nelson et al. (2016).

Identificación de los Metiers

Para identificar los metiers, se realizará una matriz de datos con los posibles atributos del metier. Estos atributos serán aquellos relevantes para definir unidades bajo criterios biológicos (rasgos de historia de vida y modo reproductivo), ecológicos (hábitat), temporales (temporada de pesca, TP), tecnológicos (artes de pesca y tipo de embarcación) y económicos (precio del producto), así como las especies objetivo. La relevancia estará en función de la información que proporcionan las características en torno a la vulnerabilidad biológica y pesquera de las especies, de acuerdo con lo que se menciona en la literatura y las observaciones en campo.

Los datos que se utilizarán en la investigación se obtendrán de información publicada en bases de datos, revistas científicas, tesis, documentos especializados, así como de la aplicación de ecuaciones empíricas (Froese y Binohlan, 2000) de cada una de las especies con datos existentes y con datos que se generarán a partir de los muestreos. También se tomará en cuenta el conocimiento empírico de los pescadores mediante entrevistas previamente diseñadas (Johannes et al., 2000).

La matriz se someterá a análisis variados de agrupamientos tipo cluster para definir la similitud de las especies con los otros componentes del metier como temporada de pesca, arte y área de pesca. también se aplicará un análisis de componentes principales para definir aquellos atributos con mayor influencia en la separación o agrupamiento de los metiers (Manly, 1986).

La temporada de pesca se estimará a partir de la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) mensual por especie mediante la fórmula: $CPUE = C_t / f_t$, donde: CPUE es la captura por unidad de esfuerzo (por viaje de pesca); C_t es la captura total del mes y f_t es el esfuerzo total o número de viajes de pesca por mes (Ehrhardt, 1981).

Definir las unidades de gestión y diseñar las estrategias de explotación

Se analizarán los metiers y se realizarán mapas mentales para considerar si los atributos de un metier pueden ser considerados como una unidad de gestión. Una vez definidas las unidades de gestión, se planteará una o varias estrategias de explotación. De igual manera, las estrategias serán representadas por modelos conceptuales. Además, dentro de las estrategias de explotación se podrán incorporar elementos como derechos históricos, concesiones, organización de cooperativas entre otros.

Simular y valorar las estrategias de explotación

Dado que la ganancia económica es el principal factor que influye en el comportamiento de los pescadores, se evaluará el rendimiento económico de las diferentes estrategias de gestión propuestas en el presente trabajo con respecto a la estrategia actual.

Las simulaciones se realizarán utilizando como base en el modelo FISMO (Chávez, 2005). El modelo se alimentará con datos de captura, gastos de operación y precio del producto, los cuales se obtendrán a partir de la información directa que proporcionarán los pescadores.

LITERATURA CITADA

- Andersen B. S., C. Ulrich, O. R. Eigaard, A.S. Christensen. 2012. Short-term choice behaviour in a mixed fishery: investigating métier selection in the Danish gillnet fishery. *Marine Science*, 69(1): 131-143.
- Branch T.A., Hilborn R., Haynie A.C., Fay G., Flynn L., Griffiths J., Marshall K. 2006. Fleet dynamics and fisherman behavior: lessons for fishery managers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63: 1647-1668.
- Chávez E. A. 2005. FISMO: A Generalized Fisheries Simulation Model. pp: 659–681. In: Kruse, G.H., Gallucci V. F., Hay D.E., Perry R.I., Peterman R.M., Shirley T.C., Spencer P.D., Wilson B., Woodby D. (eds.), *Fisheries assessment and management in data-limited situations*. Alaska Sea Grant College Program, University of Alaska Fairbanks.
- D.O.F. 2010. (Consultado el 18 de enero de 2019. <http://www.inapesca.gob.mx/portal/documentos/cartaNacionalPesquera2010.pdf>).
- Ehrhardt, M, N. 1981. Métodos de análisis de las estadísticas de captura y esfuerzo de pesca y su aplicación en modelos globales de pesquería, curso sobre biología pesquera. FAO-CICIMAR-IPN. La paz, Baja California Sur. 48 p.
- Espinoza-Romero M.J., Cisneros-Mata M.A., MsDaniels T., Torre J. 2014. Aplicación del enfoque ecosistémico al manejo de pesquerías artesanales. Caso de estudio: Puerto Libertad, Sonora. *Ciencia pesquera*. 22(2): 65-77.
- Fischer W., Krupp F., Schneider W., Sommer C., Carpenter K.E., Niem V.H. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. (Vols. II-III). FAO. Rome, Italy.
- Forcada A., Valle C., Sánchez-Lizaso J. L., Bayle-Sempere J. T., Corsi F. 2009. Structure and spatio-temporal dynamics of artisanal fishery around a Mediterranean marine protected area. *Journal of Marine Science*, 67: 191–203.
- Froese R., Binohlan C. 2000. Empirical relationships to estimate asymptotic length, length at first maturity and length at maximum yield per recruit in fishes, with a simple method to evaluate length frequency data. *J. Fish. Biol.*, 56: 758- 773.
- Froese R., Pauly D. 2018. Fishbase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org.
- Johannes R.E., Freeman M.R., Hamilton R.J. 2000. Ignore fishers' knowledge and miss the boat. *Fish and fisheries*. 1:257-271.
- King J.R., McFarlane G.A. 2003. Marine fish life history strategies: applications to fishery management. *Fish. Manag. Ecol.*, 10: 249-264.
- Manly B. *Multivariate statistical methods: A primer*, Chapman and Hall, Londres, 1986.

Monroy C., Salas S., Medina H., Uribe M., Quijano D. 2018. Rendimiento económico (CUASI-RENTA) de una pesquería mixta de la zona costera de Yucatán: flota ribereña. IX Foro de pesca ribereña, 267-268.

Nelson J.S., Grande T.C., Wilson M.V.H. 2016. Fish of the world. John Wiley & Sons Inc, Canada, 707 p.

Robertson D.R., Allen G.R. 2015. Peces Costeros del Pacífico Oriental Tropical: sistema de Información en línea. Versión 2.0 Instituto Smithsonian de investigaciones Tropicales, Balboa, República de Panamá.

Tzanatos, E., E. Dimitriou, G.Katselis, M. Georgiadis, C. Koutsikopoulos. 2005. Composition, temporal dynamics and regional characteristics of small-scale fisheries in Greece. Fisheries research, 73: 147-158.

REVISIÓN LITERARIA SOBRE EL MURCIÉLAGO VAMPIRO COMÚN (*Desmodus rotundus*) Y SU INTERACCIÓN CON LA ACTIVIDAD GANADERA EN LATINOAMÉRICA.

Kathleen F. Galindo-Sánchez 1*, Soila M. Gaxiola-Camacho², Luis F. Aguirre³, Aldo A. Guevara Carrizales⁴

1Estudiante Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, *kathleengalindo.fmvz@uas.edu.mx;

2Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 3Centro de Biodiversidad y Genética Universidad Mayor de San Simón. 4Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California.

INTRODUCCIÓN

En México se distribuyen alrededor de 138 especies de murciélagos (Ramírez-Pulido et al., 2014). De las cuales únicamente tres se alimentan de sangre: *Desmodus rotundus*, también conocido como murciélagos vampiro común, *Diaemus youngi* (vampiro de ala blanca) y *Diphylla ecaudata* (vampiro de patas peludas), que por sus hábitos alimenticios se convierten en potenciales transmisores de la rabia (Greenhall, 1971). Sin embargo, la escasez y la distribución restringida de *Diphylla ecaudata* y *Diaemus youngi* las hacen poco importantes como transmisoras de esta enfermedad. Por lo contrario, *D. rotundus* tiene una distribución más amplia, por lo que es común encontrarlo en ambientes y refugios muy variados, donde suele ser la única especie, o bien, coexistir con murciélagos inofensivos (Romero, Aguilar y Sánchez, 2006). Se ha estimado que *D. rotundus* puede viajar en busca de alimento hasta 15 ó 20 km de distancia respecto a su refugio (Dantas, Valencia y DeAndrade, 2005). Pese a que *D. rotundus* es un murciélagos común, nunca es la especie más abundante en un refugio compartido, sin embargo, el daño que ocasiona al alimentarse de la sangre de los mamíferos domésticos y de importancia agropecuaria es significativo (Dantas, Valencia y DeAndrade, 2005), al ocasionar la muerte del ganado o bien, al originar una disminución en la producción de carne, leche y al disminuir la calidad de las pieles. Adicionalmente, la pérdida continua de sangre causada por su alimentación diaria, puede llegar a debilitar a los animales, provocar infección en las heridas, e incluso causar la muerte del individuo por anemia u otras enfermedades (Romero, Aguilar y Sánchez, 2006). Con el objetivo de solucionar esta problemática en México, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) ha implementado la Campaña nacional para la prevención y control de la rabia en bovinos y especies ganaderas. Dicha campaña se enfoca en la vacunación antirrábica del ganado y animales domésticos, control de las poblaciones de murciélagos vampiro, vigilancia activa y atención de los casos diagnosticados por laboratorio. Esta campaña no ha disminuido significativamente los casos de rabia bovina en México, en el periodo de 2011 a 2018 se han reportado un promedio de 1068 notificaciones por año de agresiones en ganado por murciélagos vampiro, de las cuales el 47% se trató de casos positivos para rabia (SENASICA, 2019). De manera particular para el estado de Sinaloa, los murciélagos representan el grupo de mamíferos más diverso, aunque cabe mencionar que sólo se ha registrado la presencia del murciélagos vampiro común, esta especie

presenta una amplia distribución a lo largo del estado, concentrándose mayormente en el sur del estado (Hortelano, Solano y León, 2016). Según registros obtenidos en la campaña nacional, se tiene un promedio de 2.8 casos de rabia en los últimos ocho años (SENASICA, 2019). Esta problemática se agrava, debido a que la abundancia local de *D. rotundus*, se ve favorecida por el incremento del número del ganado en el campo. Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo describir los alcances sobre los planes de control sobre la especie y el estudio de la relación entre *Desmodus rotundus* y la actividad ganadera en Latinoamérica, con la finalidad de sentar las bases que permitan la investigación y faciliten la toma de decisiones y manejo en el sector ganadero en el estado de Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con nuestros objetivos, se efectuó una revisión literaria de las investigaciones sobre *Desmodus rotundus* y su efecto sobre la actividad ganadera, para ello se exploró en revistas de circulación nacional e internacional incluidas en la base de datos de Scielo, EBSCO, Emerald, REDALyC, Sciece, Scopus, Nature.com, BioOne, Elsevier, PubMed y Google Académico. Para la búsqueda en internet se incluyeron palabras claves "chiroptera", "murciélagos", "bats", "desmodus rotundus", "ganado", "cattle", "livestock", "rabies", "encefalomielitis vírica aguda", "cattle", "common vampire bat", "derriengue", "risk factor", "vampire bat", "rabia paralítica bovina", "lyssavirus", "desmodus rotundus", "murciélago hematófago", "variante 3 (agv3)", "hematofagous bat", "rabia".

De manera complementaria se consultó la base de datos del sistema bibliotecario de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Para definir el tipo de temática de los trabajos se usó como guía las palabras clave del documento y los objetivos.

RESULTADOS

Como resultado de la revisión literaria se obtuvieron 61 trabajos referidos para *Desmodus rotundus* y su asociación a la actividad ganadera, partiendo del año 1970 al año en curso, de los cuales el 93% corresponden a artículos científicos y el 7% restante a literatura gris (Tesis, reportes, capítulos de libros, libros).

El 38% (n=23) de los trabajos se enfocan en el análisis de la biología de *D. rotundus* cómo reservorio y posible vector del virus de la rabia. Un 13% (n=8) está representado por planes de control de la especie para la prevención del virus de la rabia en ganado. Por otra parte, el 16% (n=10) describe la problemática y costos de la incidencia de rabia transmitida por murciélago vampiro y un 15% (n=9) describe escenarios de distribución potencial y riesgos por murciélagos hematófagos en la actividad ganadera y salud pública. Tres artículos que representan el 5% de las publicaciones, describen el efecto del cambio climático en la distribución de incidencia de la rabia paralítica bovina. Finalmente, el 13% (n=8) restante describe otros agentes patógenos de las cuales se registró a *D. rotundus* como portador y posible vector: Coronavirus, Betaretrovirus, Bartonella, Adenovirus, arbovirus (dengue) y *Trypanosoma cruzi*, mejor conocido como mal de chagas. Estos trabajos se concentran en latinoamericana principalmente distribuidos en la región sur, con publicaciones por países: México, Perú, Brasil, Colombia, Costa Rica y Trinidad.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En los diferentes escenarios se han realizado numerosos esfuerzos para controlar a las poblaciones del murciélago vampiro y la transmisión del virus de la rabia. Hasta ahora el método convencional ha sido el de capturar vampiros cuando llegan a alimentarse, untándolos con anticoagulantes para que a su vez mueran otros animales al acicalarlo en su refugio. Este método asegura la muerte de aproximadamente nueve animales adicionales al que es untado con el anticoagulante (Vargas y Quiñones, 1992), sin embargo, es un método ciego que no contempla el conocimiento de la estructura de la población, su distribución o los refugios habitados por esta especie. Por lo tanto, los métodos utilizados han sido inadecuados, muy costosos y con resultados poco favorables, traduciéndose en pérdidas económicas (Anderson et al., 2012). En conclusión, el estudio del murciélago vampiro como vector de rabia en el sector ganadero ha arrojado importantes esfuerzos por describir y entender esta problemática, sin embargo, no se cuenta con mediciones y publicaciones que convaliden los alcances de esfuerzos de control de las campañas sanitarias que ha ejecutado cada país, ya que sólo se habla de número de ejemplares de murciélagos vampiros muertos pero no se conoce a qué porcentaje de la población de *D. rotundus* se está llegando o cuántos de éstos individuos realmente se alimentan de especies ganaderas, además de que la problemática de la rabia prevalece en la producción ganadera (Streicker et al., 2012).

Por último, cabe mencionar que a causa de los estragos ocasionados por el murciélago vampiro se ha estigmatizado a todos los murciélagos en Latinoamérica, siendo blanco de prácticas de manejo inadecuadas, en las cuales se capturan y matan a los murciélagos de todos los gremios tróficos sin conocer los impactos ecológicos que esto conlleva (Mayen, 2003). En conclusión, el presente trabajo de revisión confirma la necesidad de conocer la distribución y dinámica poblacional de la especie *D. rotundus* como principal base para el diseño de planes de manejo y control.

LITERATURA CITADA.

Anderson A., Scwiff, S., Gebhardt K., Ramírez A. J., Shwiff S., Kohler D., Lecuona L. 2012. Economic evaluation of vampire bat (*Desmodus rotundus*) rabies prevention in Mexico. *Transboundary and Emerging Diseases*, 61:140-146.

Dantas T. F., Valencia C. & De Andrade F. G. 2005. First record of *Desmodus rotundus* in an urban area from the city of Olinda, Pernambuco, northeastern Brazil: a case report. *Revista Institucional de Medicina Tropical de Sao Paulo* 47:107-108.

Greenhall A. M., Schmidt U. y Lopez F. W. 1971. The attacking behavior of the vampire bat, *Desmodus rotundus*, under field conditions. *Biotropica*. 3 (2):136-141.

Hortelano M. Y., Solano A. J. E. y León T. M. Á. 2016. Mamíferos silvestres del estado de Sinaloa. Pp. 405-440 en *Riqueza y Conservación de los Mamíferos en México a Nivel Estatal* (Briones-Salas, M., Y. Hortelano-Moncada, G. Magaña-Cota, G. Sánchez-Rojas y

J. E. Sosa-Escalante, eds.). Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Asociación Mexicana de Mastozoología A. C. y Universidad de Guanajuato, Ciudad de México, México.

Mayen F. 2003. "Haematophagous Bats in Brazil, Their Role in Rabies Transmission, Impact Public Health, Livestock Industry and Alternatives to an Indiscriminate Reduction of Bat Population." *Journal of Veterinary Medical Science*. (50):469-472.

Ramírez P. J., González R. N., Gardner A. L., Arroyo C. J. 2014. "List of Recent Land Mammals of Mexico, 2014." *Special Publications of the Museum of Texas Tech University*, No. 63. Lubbock, Texas, EE. UU.

Romero A. M. L., Aguilar S. A., Sánchez H. S. 2006. *Murciélagos benéficos y vampiros: características, importancia, rabia, control y conservación*. AGT Editor, S. A., México, D. F. 213 pp.

SENASICA. Campaña Nacional para la prevención y control de la rabia, actividades de vigilancia: ENERO A DICIEMBRE 2017. 2019 [En línea] Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/326610/VIG_RPB_ENE_DIC_2017_MZO.PDF (2019, 30 enero)

Streicker D. G., Recuenco S., Valderrama W., Gomez B. J., Vargas I., Pacheco V., Condori C. R. E., Montgomery J., Rupprecht C. E., Rohani P., Altizer S. 2012. Ecological and anthropogenic drivers of rabies exposure in vampire bats: implications for transmission and control. *Proc. R. Soc. B*. DOI: 10.1098/rspb.2012.0538

Vargas S., Quiñones M. 1992. Rabia paralytica bovina y control del vampiro *Desmodus rotundus murinus*, en el estado de Morelos. *Revista Universidad: Ciencia y tecnología*. Cuernavaca, Morelo

VIVIPARIDAD EN CACTACEAS DE CHIAPAS

Santos Bersain Pérez González 1, Álvaro Reyes Olivas¹, Gabriel Antonio Lugo García¹
y Bardo Heleodoro Sánchez Soto¹.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias. ¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte,
Universidad Autónoma de Sinaloa. bersain_gonzalez@outlook.es

RESUMEN

La germinación precoz es una forma rara de reproducción en el reino vegetal, que consiste en el crecimiento continuo del embrión y su tránsito al estado germinativo antes de la abscisión y dispersión de los frutos. Esta condición, asociada comúnmente con medios tropicales húmedos, también se registra en especies de ambientes secos y semisecos. En las cactáceas, nosotros sostenemos la hipótesis de que la germinación precoz es un fenómeno común, asociado con rápido establecimiento en medios muy cambiantes. El objetivo de esta investigación es determinar la incidencia de viviparidad en cactáceas de la Sierra de Chiapas, en los Municipios de Motozintla, Amatenango de la Frontera y Mazapa de Madero con diferentes regímenes climáticos. Con base en la revisión de las semillas, se determinaron las proporciones de individuos y frutos vivíparos. Las frecuencias de frutos con viviparidad se sometieron a pruebas de independencia con la prueba de χ^2 al 5%, utilizando el procedimiento FREQ del programa SAS. En esta investigación se confirman ocho nuevos casos de viviparidad en cactáceas de Chiapas: *Acanthocereus tetragonus*, *Peniocereus chiapensis*, *Epiphyllum thomsonianum*, *Epiphyllum hookeri*, *Weberocereus glaber*, *Stenocereus pruinosus*, *Mammillaria voburnensis* y *Disocactus ackermannii*. La incidencia de viviparidad en estas especies fue, en el orden indicado: 12, 76, 18, 33, 21, 20, 3, 11 %. Estas especies se localizan en bosque tropical caducifolio, bosque espinoso y bosque mesófilo de montaña. Mientras que *Rhipsalis baccifera* (1%), registrada previamente con viviparidad, se localizó en zonas cafetaleras con remanentes de bosque tropical subperennifolio. Las semillas vivíparas, mostraron diferentes etapas de desarrollo, algunas con tejido fotosintético, cotiledones y radícula. Palabras clave: Germinación precoz, Chiapas, *Weberocereus*, *Stenocereus*, *Peniocereus*

ABSTRACT

The precocious germination or vivipary is a rare form of reproduction in plant kingdom, which consists in continuous growth of the embryo and its transit to germination state before the abscission and dispersión of the fruits. This condition is widespread in different environments and botanical families. In cacti, we maintain the hypothesis that precocious germination is a common phenomenon, associated with rapid establishment in changing environments. The objective of this research was to determine the incidence of vivipary in cactus species that inhabit the Sierra de Chiapas in the municipalities of Motozintla, Amatenango de la Frontera and Mazapa de Madero with different climatic regimes. The variables recorded were proportion of viviparous individuals, percentage of viviparous fruits/plant. The frequencies of fruits with vivipary were subjected to Independence test χ^2 with 5%, using the FREQ procedure of the SAS program. This study confirms eight new cases of vivipary in Chiapas cacti: *Acanthocereus tetragonus*, *Peniocereus chiapensis*,

Epiphyllum thomasianum, *Epiphyllum hookeri*, *Weberocereus glaber*, *Stenocereus pruinosus*, *Mammillaria voburnensis* y *Disocactus ackermannii*. The incidence of vivipary in these species was in the indicated order: 12, 76, 18, 33, 21, 20, 3, 11 %. The species were located in deciduous tropical forest, thorny forest and mountain cloud forest. *Rhipsalis baccifera* (1%), previously recorded with vivipary, was found in coffee-growing areas with remnants of rainforest vegetation. Viviparous seeds showed different stages of development, and some seedlings with photosynthetic tissue, cotyledons and radicle. Key words: precocious germination, Chiapas, *Weberocereus*, *Stenocereus*, *Peniocereus*.

INTRODUCCION

La viviparidad o germinación precoz es una forma rara de reproducción en el reino vegetal, donde el embrión permanece fisiológicamente activo y emerge de los tejidos de la semilla antes de la dispersión (Elmqvist y Cox, 1996; Farnsworth, 2000). Se han registrado en 196 especies de angiospermas vivíparas (Farnsworth, 2000), a las cuales se suman 60 de las 1430 especies que integran la familia Cactaceae (Pérez et al., 2015; Cota et al., 2011; Casillas et al., 2018), lo que representa el 4% de la familia, superior al de otras familias vegetales (Cota et al., 2011). La condición vivípara en estas últimas es facultativa, sólo una porción de las semillas carece de latencia y germinan precozmente. Las condiciones usuales en que se desarrollan estas semillas son de alta humedad, en ambientes tropicales (Farnsworth, 2000), y menos común en las zonas áridas en donde habitan los cactus (Cota et al., 2011). La viviparidad en Cactaceae fue reportado por Britton y Rose (1920) en *Selenicereus grandiflorus* (L.) Britton y Rose por primera vez. Seguido de reportes de otras especies conocidas (Baxbaum, 1968; Conde, 1975; Madison, 1977; Lombardi, 1993; Cota, 2004; Cota et al., 2007; Rojas y Mandujano, 2009; Cota et al., 2011; Barrios et al., 2012; Aragón et al., 2013; Pérez et al., 2015; Aragón et al., 2017 y Casillas et al., 2018) hasta la actualidad. De acuerdo con estos reportes, parece que la viviparidad es común en Cactaceae (Madison, 1977), sin embargo, no hay suficiente información sobre incidencia en especies, poblaciones, y condiciones ecológicas en las que se presenta la germinación precoz. Esta investigación se propone generar esa información para las cactáceas de Chiapas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La familia Cactaceae es diversa. Anderson (2001) reconoce 1600 especies, sin embargo, el New Cactus Lexicon reconoce 1430 especies (Hunt et al., 2006), y la International Union for Conservation of Nature (IUCN) reconoce 1480 (Goettsch et al., 2015). México tiene el mayor número de especies con 850 (Becerra, 2000). En este amplio número de especies, solo se han confirmado entre 50 y 60 especies con viviparidad (Cota et al., 2011; Pérez et al., 2015; Casillas et al., 2018). En el estado de Chiapas se reconocen 57 especies de cactus (Ishiki et al., 2013) y no se ha explorado la incidencia de germinación precoz en sus poblaciones, sobre todo las especies que se distribuyen en sus límites con Guatemala.

HIPÓTESIS

La germinación precoz facultativa, está ampliamente extendida en diferentes hábitats y grupos taxonómicos de Cactaceae.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECIFICO

General

Determinar la incidencia de la germinación precoz o viviparidad en cactáceas de la Sierra de Chiapas, en los Municipios de Motozintla, Amatenango de la Frontera y Mazapa de Madero con diferentes regímenes climáticos.

Específico

Documentar la proporción de individuos vivíparos, porcentaje de frutos vivíparos/planta, el número de semillas/fruto y el porcentaje de semillas vivíparas/fruto

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio considera cuatro localidades de la Sierra de Chiapas, en la frontera con Guatemala.

1) Ejido Motozintla, con clima semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano. El sitio de estudio se localiza entre los 1200 a 1500 m sobre el nivel del mar (msnm) y tiene una temperatura media anual (tma) de 21.5 °C. La vegetación es bosque tropical caducifolio con *Cedrela odorata* L., *Urera baccifera* (L.) Gaudich. Ex Wedd., *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Guarea* sp. y *Tillandsia brachycaulos* Schltdl. y *Spondias purpurea* L. El suelo característico es de tipo Cambisol (INEGI, 2019a).

2) Ranchería El Pacayalito, municipio Motozintla. El sitio de estudio se localiza a 550 msnm. Tiene un clima cálido húmedo con un promedio anual de 2007.7 mm de precipitación y temperatura de 23.3 C tma. La vegetación es de bosque tropical subperennifolio con especies de importancia económica (Cafetales) (INEGI, 2019a). Algunas especies del sitio son *Guazuma ulmifolia* Lam., *Cojoba arborea* (L.) Britton & Rose, *Tabernaemontana donnell-smithii* Rose ex J.D.Sm., *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Gliricidia sepium* (Jacq) Walp., *Aspidosperma megalocarpom* Müll.Arg., *Terminalia amazonia* (J.F.Gmel.) Exell.

3) Amatenango de la Frontera tiene un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano con un rango de precipitación de 1000 a 2500 mm y temperatura de 16 a 24 °C, la altitud es de 900 msnm. El suelo es de tipo Regosol y la vegetación es bosque tropical caducifolio (INEGI, 2019b). Especies vegetales en el sitio son: *Cedrela salvadorensis* Standl., *Guayacan*, *Plumeria rubra* L., *Tecoma stans* (L.) Juss. Ex Kunth, *Acacia pennatula* (Schltdl. & Cham.) Benth, *Lysiloma divaricatum* (Jacq.) J.F.Macbr, *Ceiba acuminata* (S.Watson) Rose, *Alvaradoa amorphoides* Lebm.

4) Ejido El Oriente, Motozintla. Se localiza a 2600 msnm, tiene clima templado húmedo con lluvias en verano, del orden de tantos mm anuales y temperaturas de tanto. El suelo es de tipo cambisol (INEGI, 2019a), con vegetación de bosque mesófilo de montaña. Las

especies vegetales presentes son: *Persea americana* Miller, *Hedyosmum mexicanum* C. Cordem, *Weinmannia pinnata* L. y *Quersus* sp., *Fuchsia arborescens* Sims, *Chusquea foliosa* L.G.Clark y *Conostegia* sp. Granados, Tolcanaque, Municipio de Mazapa de Madero comparte estas características.

Viviparidad

Se realizaron recorridos en las localidades de los municipios de Motozintla, Mazapa de Madero y Amatenango de la Frontera en Chiapas, México con la finalidad de identificar poblaciones de cactus. En la etapa de fructificación, se cosecharon frutos maduros, que fueron llevados a laboratorio para disección previo etiquetado y documentar presencia o ausencia de semillas vivíparas. Se consideraron frutos y plantas vivíparas, si en el interior del fruto contenía por lo menos una semilla encrustada (vivípara) con o sin tejido fotosintético con la radícula o plúmula expuesta; no vivíparas, aquellos frutos y plantas con ausencia de semillas vivíparas. Se consideraron como variables a la proporción de individuos vivíparas, porcentaje de frutos vivíparas/planta y el número de semillas/fruto.

Análisis estadístico

Las frecuencias de frutos con viviparidad fueron sometidos a pruebas de independencia entre tasas con la prueba exacta de Fisher, al 5%. Se utilizó el procedimiento **FREQ** del programa SAS (SAS Institute, 2016), y se invocó la opción **FISHER** después del enunciado **TABLES** para analizar cuadros de contingencia mayores que 2x2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se revisaron a *Stenocereus pruinosus*, *Epiphyllum thomasianum*, *Peniocereus chiapensis*, *Weberocereus glaber*, *Rhipsalis baccifera*, *Acanthocereus tetragonus*, *Mammillaria voburnensis*, *Disocactus ackermannii*, *Epiphyllum hookeri*, *Epiphyllum phyllanthus* y *Selenicereus hamatus* (Cuadro 2) de las cuales las primeras especies fueron vivíparas mientras que las dos últimas especies *Epiphyllum phyllanthus* y *Selenicereus hamatus* no presentaron viviparidad, puede ser por el tamaño de muestra tomada en el estudio a como se recomienda (Cota et al., 2011). Estas especies se distribuyen en bosque tropical caducifolio, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña y bosque tropical subperennifolio con un rango de precipitación de 800 a 3000 mm promedio anual y de temperatura promedio de 16 a 23 °C. Además, en tres formas vitales: globoso, epifito y columnar que fructifican de mayo a septiembre (Cuadro 2).

Se revisaron 11 especies de cactus de los cuales nueve fueron vivíparas, equivalente al 81.81% del total muestreado en tres municipios de la Sierra de Chiapas (Cuadro 1). Mientras que con el total de especies existentes (57) en el estado (Ishiki et al., 2013) se reduce al 15%. Aun así, el porcentaje es alto, comparando el porcentaje de los cactus vivíparas de Chiapas con los datos generales de la familia (de 1430 especies) del 4% reportados por (Cota et al., 2011; Pérez et al., 2015; Casillas et al., 2018).

La más alta presencia de viviparidad en individuos (100 %) fue en *Peniocereus chiapensis* y la más baja en *Mammillaria voburnensis* (11 %) mientras que a nivel de frutos el porcentaje más alto ocurrió en *Peniocereus chiapensis* (76) y la más baja fue en *Rhipsalis baccifera* (1 %) (Cuadro 1). La heterogeneidad de los porcentajes de frutos en las

especies estudiadas son similares a otras especies reportadas (Aragón et al., 2013; Pérez et al., 2015; Aragón et al., 2017; Casillas et al., 2018).

Las semillas vivíparas (plántulas o embriones criptovivíparas) de *Weberocereus glaber*, *Epiphyllum thomasianum*, *Rhipsalis baccifera*, *Disocactus acklermannii* carecen de tejido fotosintético y tamaño incipiente con la radícula o plúmula expuesta de los tegumentos de las semillas, semejante a las semillas germinadas precozmente de *Stenocereus thurberi* y *Pachycereus grandis* (Rojas y Mandujano, 2009; Pérez et al., 2015; Casillas et al., 2018) mientras que *Acanthocereus tetragonus*, *Peniocereus chiapensis*, *Mammillaria voburnensis*, *Stenocereus pruinosus* y *Epiphyllum hookeri* presentan tamaños desarrollados con tejido fotosintético, cotiledones y radículas extendidas, en diferentes etapas de desarrollo, semejantes a *Leptocereus scopulophilus*, *Selenicereus grandiflorus*, *Leptocereus arboreus*, *Ferocactus herrerae*, *Stenocereus alamosensis* así como *Epiphyllum phyllanthus* (Cota et al., 2007; Cota y Abreu, 2007; Barrios et al., 2012).

Cuadro 1: Plantas y frutos de cactus de Chiapas, México, clasificados en dos categorías (VV: Vivíparas, NV: No vivíparas).

Especie	Plantas VV/ Frutos VV (%)	Plantas NV/ Semillas vivíparas	Plantas VV (%)	Frutos VV	Frutos NV
<i>Epiphyllum thomasianum</i>	2/4	33.33	4/18	18.18	5
<i>Peniocereus chiapensis</i>	5/0	100	22/7	75.86	304
<i>Stenocereus pruinosus</i>	7/8	46.66	13/52	20.31	13
<i>Weberocereus glaber</i>	40/34	54.0	131/472	21.72	403
<i>Acanthocereus tetragonus</i>	2/1	66.66	4/29	12.12	17
<i>Mammillaria voburnensis</i>	1/8	11.11	3/82	3.53	7
<i>Disocactus ackermannii</i>	5/7	41.7	6/46	11.54	8
<i>Rhipsalis baccifera</i>	16/8	66.66	38/4377	0.86	40
<i>Epiphyllum phyllanthus</i>	0/4	0	0/5	0	0
<i>Epiphyllum hookeri</i>	1/0	100	1/2	33.33	4
<i>Selenicereus hamatus</i>	0/1	0	0/8	0	0
Total	79/75	47.3 (promedio)	222/5098	19.7 (promedio)	801

Cuadro 2. Atributos morfológicos de las especies y condiciones ecológicas de las cactáceas revisadas en esta investigación

Especies	Tribu	Localidad	Hábitat	Forma de vida
		Vegetación	Precipitación (promedio anual, mm)	Temperatura (promedio anual, °C)
		Forma vital	Polinización	Fructificación
<i>Stenocereus pruinosus</i> (Otto ex Pfeiff.)	Buxb.	Pachycereae	Motozintla	y
Amatenango de la Frontera	Bosque tropical caducifolio	857	21.8	Columnar
Morcielago 3	Mayo a Julio			1,2
<i>Epiphyllum thomasianum</i> (K. Shum.)	Britton & Rose	Hylocereeae	Motozintla	
	Bosque tropical caducifolio	857	21.8	Epifito 1,2
			Palomilla	Agosto

Peniocereus chiapensis (Bravo) Gómez-Hin. & H.M. Hern.					Pachycereeae	Motozintla			
Bosque tropical caducifolio y bosque espinoso	857	21.8			Columnar				5
Morcielago 3									Julio-Septiembre
Weberocereus glaber (Eichlam) G.D. Rowley					Hylocereeae	Motozintla			Bosque
tropical caducifolio	857	21.8		Epifito 1	Avispas y abejas				Mayo-Junio
Rhipsalis baccifera (J.S. Muell.) Stearn					Rhipsalideae	Rancheria			Pacayalito,
Motozintla					2007.7	23.3	Epifito 1,2	Abejas	4
Bosque tropical perennifolio									Junio-Agosto
Acanthocereus tetragonus (L.) Hummelinck					Pachycereeae	Rancheria			Pacayalito,
Motozintla					2007.7	23.3	Columnar 1,2	Morcielago	3
Bosque tropical perennifolio									Junio-Julio
Mammillaria voburnensis Scheer					Cacteae	Motozintla			Bosque tropical
caducifolio	857	21.8		Globo 6	Abejas				Junio-Julio
Disocactus ackermannii (Haw.)					Hylocereeae	Ejido Oriente, Motozintla			Bosque
mesófilo de montaña	3000	16		Epifito 7	Colibrí 3,4				Todo el año, pero se cosechó en Enero-Marzo
Epiphyllum hookeri Haw.					Hylocereeae	Amatenango de la Frontera			Bosque tropical
caducifolio	857	20		Epifito 1,2	Palomilla				Mayo
Epiphyllum phyllanthus (L.) Haw.					Hylocereeae	Rancheria			pacayalito, Motozintla
Bosque tropical perennifolio					2007.7	23.3	Epifito 1,2	Palomilla 4	Junio-Agosto.
Selenicereus hamatus (Scheidw) Britton y Rose					Hylocereeae	Candelaria,			Motozintla
- - -					Epifito 1,2,8	Palomilla			Noviembre-Febrero.

1: Bravo y Sánchez, 1978; 2: Anderson, 2001; 3: Badano y Schulumpberger, 2001; 4: Almeida et al., 2013; 5: Gómez y Hernández, 2005; 6: Bravo y Sánchez, 1991; 7: Arias y Ishiki, 2017; 8: Hernández et al., 2017. - = sin datos.

CONCLUSIONES

Se confirman ocho nuevos registros de viviparidad en cactus de Chiapas, distribuidos en el bosque tropical caducifolio, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña y bosque tropical subperennifolio: *Acanthocereus tetragonus*, *Peniocereus chiapensis*, *Epiphyllum thomsonianum*, *Epiphyllum hookeri*, *Weberocereus glaber*, *Stenocereus pruinosus*, *Mammillaria voburnensis*, *Disocactus ackermannii* y *Rhipsalis baccifera*, representa el 15% de viviparidad en la flora cactológica de Chiapas. El porcentaje de frutos vivíparos fue heterogéneo entre taxones. Los frutos vivíparos contienen semillas de tamaño

incipiente y en estado de desarrollo con tejido fotosintético, cotiledones y radícula extendida.

LITERATURA CITADA

- Almeida O.J.G., Cota S.J.H., Paoli A.S. 2013. The systematic significance of floral morphology, nectaries, and néctar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15: 255-268. Doi: 10.1016/j.ppees.2013.08.001.
- Anderson E. F. 2001. *The Cactus Family*. Oregon, USA. Timber Press, 776 pp. ISSN: 0-88192-498-9
- Aragón G.J.L., Flores J., Yáñez E.L., Reyes O.A., Rodas O.J.P., Robles D.E., González F.J. 2017. Advantages of vivipary in *Echinocactus platyacanthus*, an endemic and protected Mexican cactus species. *Journal of Arid Environments* 141:56-59. Doi: 10.1016/j.jaridenv.2017.01.012.
- Aragón G.J.L., Reyes O.A., Sánchez S.B.H., Casillas A.P., Flores J. 2013. Vivipary in *Ferocactus herrerae* (Cactaceae) in Northern Sinaloa, México. *Bradleya* 31: 44-52. Doi: 10.25223/brad.n31.2013.a7.
- Arias S., Ishiki M. 2017. *Disocactus ackermannii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T152413A121474010. Pp 1-6. Doi: 10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T152413A121474010.en.
- Badano E. y Schlumberger B. 2001. Sistema de cruzamiento y estimaciones en la eficiencia de polinización sobre *Trichocereus pasacana* (Cactaceae) en dos poblaciones del Noroeste Argentino. *Gayana Bot* 58: 115-122.
- Barrios D., Gonzalez T.L.R y J. A. Garcia B. J.A., 2012. Vivipary in Cuban cacti: a pioneer study in *Leptocereus scopulophilus*. *Bradleya* (30): 147-150. Doi: 10.25223/brad.n30.2012.a17.
- Becerra R., 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. *Biodiversitas* 6(32): 1-5.
- Bravo H. H. y Sánchez M.H. 1978. *Las Cactáceas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. I. México. 1-744pp.
- Bravo H.H. y Sánchez M.H. 1991. *Las Cactáceas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. III. México. 1-644p p. ISSN: 968-36-1760-3.
- Britton N.L. y Rose J.N., 1920. *The Cactaceae. Descriptions and illustrations of plants of the Cactus family*. Vol II. The Carnegie Institution of Washington, 248 (2): 227 pp.
- Buxbaum V.F., 1968. Endogene Viviparie bei Neoporteria-Arten. *Kakteen und andere Sukkulente* 19: 2-3.
- Casillas A.P., Reyes O.A., Sánchez S.B.H., García M.E., Lugo G.G.A., Soto H.R.M. 2018. Germinación diferencial asociada con viviparidad facultativa en *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): correlaciones climáticas en poblaciones marginales de Sinaloa, México. *Acta Botánica Mexicana* 123:51-66. Doi: 10.21829/abm123.2018.1250.
- Conde F.L., 1975. Vivipary in *Epiphyllum*. *Cactus and Succulent Journal* 47: 38-39.
- Cota J.H., Reyes O. A., Abreu D.D. 2011. Vivipary in the cactus family: A reply to Ortega-Baes et al. Evaluation of 25 species from northwestern Argentina. *Journal of Arid Environments* 75 (9): 878-880. Doi: 10.1016/j.jaridenv.2011.04.015.

Cota S.J.H, 2004. Vivipary in the Cactaceae: Its taxonomic occurrence and biological significance. *Flora* 199: 481-490. Doi:10.1078/0367-2530-00175.

Cota S.J.H., A. Reyes O A., Sánchez S.B.H, 2007. Vivipary in coastal cacti: A potential reproductive strategy in halophytic environments. *American Journal of Botany* 94(9): 1577-1581. Doi: 10.3732/ajb.94.9.1577.

Elmqvist T., Cox P. A. 1996. The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos* 77: 3-9. ISSN: 0030-1299. Doi: 10.2307/3545579.

Farnsworth E., 2000. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. *Annal Review of Ecology and Systematics* 31: 107-138. Doi: 10.1146/annurev.ecolsys.31.1.107.

Goettsch B., Hilton T.C., Cruz P.G., Duffy P.J., et al., 2015. High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature Plants* 1: 1-7. Doi: 10.1038/NPLANTS.2015.142.

Gómez H.C. y Hernández H.M. 2005. A new combination in *Peniocereus* (Cactaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76(2): 129-135. ISSN: 2007-8706.

Gorostiague y Ortega B., 2016. How specialised is bird pollination in the Cactaceae?. *Plant Biology* 18: 63-72. Doi: 10.1111/plb.12297. ISSN: 1435-8603.

Hernández H.M., Cházaro M. y Gómez H.C., 2017. *Selenicereus hamatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T152700A121605419. Doi: 10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T152700A121605419.

Hunt D., Taylor N. y Charles, 2006. The new cactus lexicon. DH Books, Milborne Port, U.K. 900 pp. ISSN: 9780953813445.

INEGI, 2019a. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Motozintla Chiapas. Clave geoestadística 07057. [Www.inegi.org.mx/](http://www.inegi.org.mx/) (Consultado 21 de febrero 2019).

INEGI, 2019b. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Amatenango de la Frontera, Chiapas. Clave geoestadística 07006. [Www.inegi.org.mx/](http://www.inegi.org.mx/) (Consultado el 21 de febrero 2019)

Ishiki I.M., Arias S. y Terrazas T. 2013. Las Cactáceas. Pp. 126-129. En: La biodiversidad en Chiapas: Estudio de estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y Gobierno del estado de Chiapas, México. 432 pp. Vol II ISBN: 978-607-8328-00-0.

Lombardi J.A., 1993. Viviparity in *Rhipsalis pilocarpa* Löfgren (Cactaceae). *Cien Cult* 45: 407.

Madison M., 1977. Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. *Selbyana* 2: 1-13.

Pérez G.S.B., Reyes O. A., García M. E., Romero M.A., García N.J.R., Lugo G.G.A., Sánchez S.B. 2015. Almacenamiento de semillas y germinación de *Stenocereus thurberi*, una cactácea con viviparidad facultativa. *Botanical Sciences* 93(2): 1-10. ISSN: 2007-4476. Doi: 10.17129/botsci.227.

Rojas A.M. y Mandujano S.M.C, 2009. Nuevo registro de semillas vivíparas en dos especies de cactáceas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 54(4): 123-127. ISSN: 0526-717X.

SAS, Institute. 2016. Software Version 9.4. of the SAS System for Windows. SAS Institute Inc, NC., USA.

VARIABILIDAD MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE DIFERENTES CEPAS DE *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, EN EL CULTIVO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN ZONAS PRODUCTORAS DE MÉXICO”

Isidro Márquez Zequera, José Antonio Garzón Tiznado¹, Raymundo Saúl García Estrada², Idalia Verdugo Enríquez¹.

Maestría en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía, ¹Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. zequera@ciad.mx

RESUMEN

60 cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* fueron aisladas de plantas tomate de las principales zonas productoras en México. Dichas cepas fueron utilizadas para realizar un estudio descriptivo donde se estudió la variabilidad morfológica y molecular de los aislados. Todas las cepas fueron identificadas como Cmm mediante PCR con los primer Cm3 y Cm4. Diversos factores de patogenicidad (*tomA*, *Chpc*, *ppaA*, *cel A* y *pat-1*) fueron analizados mediante PCR. 58 de los 60 aislados presentaron todos los genes asociados con la virulencia de CMM mientras que dos de las cepas aisladas (84 y 98) resultaron negativos para los genes *Pat1*. Sin embargo, en el bioensayo de patogenicidad en plantas de tomate estas dos cepas presentaron altamente patogénicas en plantas de tomate mientras la cepa 04 no presentó patogenicidad aun cuando cuenta con todos los genes de virulencia.

Palabras claves: Tomate, Cmm, Diversidad genética, patogenicidad

ABSTRACT

60 strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* were isolated in tomato plants from the main agriculture zones in Mexico. These strains were used to performance a descriptive study with the aim to study the morphological and molecular variability between the isolates. All strains were identified like CMM with PCR using the Cm3 and Cm4 primers. Various pathogenicity factors (*tomA*, *Chpc*, *ppaA*, *cel A* and *pat-1*) were analyzed by PCR. 58 of the 60 isolates presented all the genes associated with the virulence of Cmm while two of the strains isolated (84 and 98) had negative results for the *Pat1* genes. However, in the pathogenicity bioassay in tomato plants these two strains were highly pathogenic in tomato plants while strain 04 did not present pathogenicity even though it has all the virulence genes.

Keywords: Tomato, CMM, Genetic diverse, pathogenicity.

INTRODUCCIÓN

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm), es un actinomiceto patógeno de plantas que causa el marchitamiento y el cáncer bacteriano del tomate (*Solanum lycopersicum* L.); la infección inicia a través de heridas y aberturas naturales como los estomas, provocando disminución en los rendimientos de la producción de tomate en todo el mundo. En México existen diversos reportes de la presencia de *Clavibacter*

michiganensis subsp. michiganensis en las principales zonas productoras de tomate. Flores et al. (2009^a) identificaron la presencia de este microorganismo en semillas y plantas en el estado de Sonora. Trejo-Dena (2014) identificó molecularmente 20 cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* con el uso de los oligonucleótidos CMM3 y CMM4 y, además determinó la existencia de tres fenotipos de esta especie de acuerdo con la variabilidad morfológica observada en las cepas pertenecientes a zonas de Michoacán, Sinaloa y Puebla; sin embargo, hasta el momento no existen estudios acerca de la diversidad genética que presenta *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en México, por lo cual, el objetivo de este estudio será determinar la diversidad genética de este importante patógeno.

Mecanismo de patogenicidad de Cmm. La patogenicidad de Cmm depende de los genes de virulencia localizados en los plásmidos y en la *chp*/toma isla de patogenicidad (PAI) la cual se encuentra alojada en los cromosomas. Cada uno de estos genes tienen una función específica en el desarrollo de la enfermedad (Tabla 1) por lo que han sido utilizados en diversos trabajos para describir la virulencia de diversos aislados.

Cuadro 1. Genes de virulencia en CMM

Mecanismo de acción	Gen	Region	Primer	Pares de base
Inductores de marchitez	CelA	Plásmido	pCm1	PFC3/PFC5 551
Inductores de marchitez	Pat1	pCm2	P5/P6	614
Isla de patogenicidad PAI	Isla de patogenicidad	ppaAF/ppaAR		587
Serine proteasa	chpc	chp	chpcF/chpcR	639
tomatina	tomA	TomA	tomAF/tomAR	529

La diversidad genética de Cmm en brotes de enfermedades se ha investigado en los últimos años y los primeros estudios de secuenciación y caracterización genómica de la especie dieron pie a diversas investigaciones sobre la caracterización fenotípica y genotípica de Cmm con métodos de tipificación genómica; por ejemplo, BOX-PCR, AFLP, ISSR en diversas regiones del mundo (Baysal et al., 2010).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* es una bacteria gram positiva que cuenta con cuarentena a nivel mundial ya que causa el cáncer bacteriano en tomate y la principal vía de diseminación es a través de la semilla. Diversos brotes de importancia económica se han presentado en México debido a la presencia en campos agrícolas de este fitopatógeno. En los últimos años esta bacteria se encuentra atacando otros cultivos como a la papa y chile. Hasta el momento en México no existen trabajos donde se haya estudiado la presencia de genes asociados con patogenicidad de cepas provenientes de campo agrícolas mexicanos y si esta especie u otras está atacando otras solanáceas. Para esto en el presente estudio se cuenta con diferentes cepas de la bacteria de las principales zonas productoras de tomate en México.

HIPÓTESIS

Las cepas aisladas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) presentarán variabilidad genética entre las cepas de Cmm aisladas de las principales zonas agrícolas de México.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECIFICO

Determinar la variabilidad fenotípica y genotípica de diferentes cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* aisladas del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de las principales zonas productoras de México.

Objetivos específicos

Caracterizar morfológicamente cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* provenientes de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivadas en las principales zonas productoras de tomate en México.

Identificar molecularmente los diferentes genes que contribuyen a la patogenicidad de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. En las principales zonas productoras de tomate en México.

Realizar estudios de virulencia en plantas de tomate de las cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* aisladas en las principales zonas productoras de tomate en México.

Describir la variabilidad genética de las cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* aisladas de las principales zonas productoras de tomate en México. Análisis filogenético del gen 16s realización de dendograma filogenético.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo de investigación fue realizado en el laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo, Coordinación Culiacán. Ubicado en carretera a Eldorado Km. 5.5.

Se realizaron los muestreos en los principales estados productores de tomate en México, donde se recolectaron plantas que presentaban la sintomatología de cancer bacteriano causada por Cmm. Como primer paso se realizó una identificación rápida mediante inmunotiras (Marca AGDIA), las muestras con resultado positivo en la inmunotira fueron trasladadas al laboratorio de fitopatología del CIAD para su procesamiento. Se realizaron las siembras en el medio de cultivo Mueller Hinton con el fin del aislar la bacteria. Debido a que Cmm es de crecimiento lento, al tercer día de sembrada se empezó apreciar el crecimiento (colonias pequeñas redondas de color amarillo Fig. 1). Todas las cepas presuntivas se conservaron en viales de 2 ml con buffer de fosfato pH 7.4 (NaCl 8 g/L, KCl 0.2g/L, NA₂HPO₄ 1.44 g/L y KH₂PO₄ 0.24 g/L) y se almacenaron a 4 °C.

Cuadro 2. Estados y entidades donde se recolectaron las muestras

Estados	Entidad	Número de cepas
Baja california	Ensenada	
Mexicali	2	

1			
Coahuila	Torreón	2	
Durango	Durango	1	
Estada de México	Estada de México	1	
Guanajuato	San Miguel de Allende	4	
Jalisco	Jalisco		
Sayula		4	
2			
Michoacán	Numarán	4	
Nayarit	Compostela	2	
Puebla	Puebla	1	
San Luis Potosi	San Luis Potosi		
Rio verde			
Huizache		6	
1			
1			
Sinaloa	Culiacán		
Carretera las puentes			
Carretera a Eldorado			
La Palma			
La Cruz de Elota			
Altata			
San Ignacio		15	
1			
1			
2			
2			
3			
1			
Sonora	Guaymas		
Cd. Obregón		1	
1			
Zacatecas	Zacatecas	1	

Para la identificación morfológica de la bacteria se sembró en 3 diferentes medios de cultivos artificiales para ver su crecimiento (Fig. 1), PDA 39g. del medio marca Bioxon y 5g de agar bacteriológico en 1000ml. De agua destilada. Mueller Hinton (38g de medio y se le adicionaron 5g de agar bacteriológico en 1000ml. De agua destilada y el medio YDC. 10g de extracto de levadura, 20g. carbonato de calcio, 20g. dextrosa anhidra y 20g. de agar bacteriológico en 1000ml. De agua destilada y se esterilizaron a 121P2 por 15min. Se realizó la siembra en las placas con la ayuda de un asa bacteriológica y se incubó a 27 C por 72hrs. La bacteria crece lenta y morfológicamente se puede visualizar como colonias diminutas de color amarillo a amarillo naranja.

(Figura 1). A: medio de cultivo PDA, B: medio de cultivo Mueller Hinton y C: medio de cultivo YDC.

Extracción de ADN

Se llevó a cabo mediante el método de lisis, del medio de cultivo artificial Mueller Hinton a los 6 días de desarrollo de las cepas presuntivas se tomó una colonia bacteriana con el uso de un asa bacteriológica esterilizada a la flama y se colocó en un vial con 100 μ L de agua destilada estéril. Posteriormente, se sometió a una temperatura de 95°C por 15 min, después se colocaron los viales en hielo por 7 min. Finalmente, se centrifugará a 10,000 x g por 10 min, se decantó el sobrenadante con cuidado para no tirar la pastilla del ADN y se resuspendió en 40 μ L de agua destilada estéril. La concentración y pureza del ADN obtenido se verificó en un Nanodrop ND-8000 Marca Thermo. A partir de la concentración obtenida se preparará una solución de trabajo a una concentración de 20ng. de ADN. Sousa et al (1997),

Identificación por PCR.

Se realizaron las PCR de cada una de las cepas aisladas de los distintos puntos muestreados, se utilizaron los primers generales para la identificación y confirmación de Cmm los primers Cm3 y Cm4. Se utilizaron las condiciones de amplificación propuestas por Sousa et al (1997), con la modificación de la temperatura de alineamiento y el tiempo en las tres fases de la PCR (Desnaturalización, alineamiento y elongación). La PCR se realizó en un termociclador marca Bio-Rad modelo T-100; la cual consistió en una desnaturalización de 94°C por 5 min, seguido de 40 ciclos de 94°C por 1 min, 62°C por 1 min, 72°C por 30seg. y una extensión final de 72°C por 5 min.

Identificación de los genes por PCR

Primers: PFC3, PFC5 gen: cel A fragmento aproximadamente 551 pb.

Se utilizaron las condiciones de amplificación propuestas por Kleitman et al. (2008), con la modificación de la temperatura de alineamiento y el tiempo en las tres fases de la PCR (Desnaturalización, alineamiento y elongación). La PCR se realizó en un termociclador marca Bio-Rad modelo T-100; la cual consistió en una desnaturalización de 94°C por 1 min, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 min, 62°C por 1 min, 72°C por 1 min y una extensión final de 72°C por 5 min.

Primers: P5 /P6 para Gen pat-1 Plásmido PCM2 serina proteasa fragmento de aproximadamente 614 pb

Se utilizaron las condiciones de amplificación propuestas por Kleitman et al. (2008), con la modificación de la temperatura de alineamiento y el tiempo en las tres fases de la PCR (Desnaturalización, alineamiento y elongación). La PCR se realizó en un termociclador marca Bio-Rad modelo T-100; la cual consistió en una desnaturalización de 94°C por 1 min, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 min, 62°C por 1 min, 72°C por 1 min y una extensión final de 72°C por 5 min.

Gen chpC región chpc serina proteasa fragmento de aproximadamente 639.

Se utilizaron las condiciones de amplificación propuestas por Kleitman et al. (2008), con la modificación de la temperatura de alineamiento y el tiempo en las tres fases de la PCR (Desnaturalización, alineamiento y elongación). La PCR se realizó en un termociclador marca Bio-Rad modelo T-100; la cual consistió en una desnaturalización de 94°C por 1 min, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 min, 64°C por 1 min, 72°C por 1 min y una extensión final de 72°C por 5 min.

Gen ppaA región chpc serina proteasa fragmento de aproximadamente 587 pb.

Se utilizaron las condiciones de amplificación propuestas por Kleitman et al. (2008), con la modificación de la temperatura de alineamiento y el tiempo en las tres fases de la PCR (Desnaturalización, alineamiento y elongación). La PCR se realizó en un termociclador marca Bio-Rad modelo T-100; la cual consistió en una desnaturalización de 94°C por 1 min, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 min, 64°C por 1 min, 72°C por 1 min y una extensión final de 72°C por 5 min.

Gen tomA región chpc Tomatina fragmento de aproximadamente 529 pb.

Se utilizaron las condiciones de amplificación propuestas por Kleitman et al. (2008), con la modificación de la temperatura de alineamiento y el tiempo en las tres fases de la PCR (Desnaturalización, alineamiento y elongación). La PCR se realizó en un termociclador marca Bio-Rad modelo T-100; la cual consistió en una desnaturalización de 94°C por 1 min, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 min, 60°C por 1 min, 72°C por 1 min y una extensión final de 72°C por 5 min.

Cuadro 3. de oligonucleótidos, secuencias y amplificación de las pares de bases.

Oligonucleótidos	Secuencias de 5' a 3'	Amplificación de:
CMM3	CCTCGTGAGTGCCGGGAACGTATCC	Confirmación de Cmm
CMM4	CCACGGTGGTTGATGCTCGCGAGAT	645pb

PFC3	GGTACGAAGTTCGAGACGAC	CelA 551pb
PFC5	TGTAGCGGTGAGTCGTGGTGA	
P5	GCGAATAAGCCCATATCAA	Pat-1 614pb
P6	CGTCAGGAGGTCGCTAATA	
chpcF	GCTCTTGGGCTAATGGCCG	chpC 639pb
chpcR	GTCAGTTGTGGAAGATGCTG	
ppaAF	CATGATATTGGTGGGGAAAG	ppaA 587pb
ppaAR	CCCCGTCTTTGCAAGACC	
tomAF	CGAACTCGACCAGGTTCTCG	toma 529pb
tomAR	GGTCTCACGATCGGTCC	

Mezcla de Rx de PCR (25ul)

1X de master mix (0.625 U Taq polymerasa, 2 mM MgCl, 0.2 mM cada dNTPs.

1 ul de cada primer

2.0 ul de ADN

Ajustar a 25 ul con agua

Electroforesis en gel de agarosa

Se realizará un gel de agarosa al 1% y se teñirá con RedGel, se cargará cada pocillo con 5µL del producto de PCR. Las condiciones que se utilizarán en la cámara de

electroforesis fueron de 80 voltios, por un periodo de 120min. El gel se visualizó en el Fotodocumentador Marca BioRad donde se observan las bandas de amplificación de cada uno de los productos de PCR a los diferentes pares de bases esperados de cada región. (Figura 2).

FIGURA 2. Geles de identificación de Cmm y genes causantes del cáncer bacteriano.
Inoculación

La semilla de tomate fue tratada con tratamiento hidrotérmico para asegurar que la semilla esté libre (Fig. 3). de la bacteria Cmm, se colocó la semilla en agua a temperatura de 55 °C por un periodo de 20 min. Posterior a este tratamiento la semilla fue puesta en un recipiente con agua a 30°C para bajar la temperatura se le dio un tratamiento con cloro al 1 % por un periodo de 5 min. Posteriormente se enjuago con agua destilada por 3 pasos se colocó la semilla en papel absorbente para ser secada, posteriormente se sembró en charolas de germinación de 128 cavidades se colocó para su germinación a la oscuridad dentro de bolsas negras, a los 3 días las semillas empezaron a germinar, cuando las plántulas tenia se 3 a 4 hojas verdaderas fueron inoculadas con las diferentes cepas de Cmm, se activaron las diferentes cepas de Cmm en el medio de cultivo Mueller Hinton y a los 4 días de crecimiento fueron inoculadas (Fig. 4) con la ayuda de un picadientes estéril se impregno la punta y se insertó en la parte de la axila de la planta. Las plantas fueron colocadas en macetas de plástico tipo azalea de 16cm de diámetro X 12 cm de altura se preparó el sustrato con una concentración sustrato para invernadero y tierra muerta de 2 a 1 se mezcló homogéneamente con la ayuda de palas se llenaron las macetas con aproximadamente 750g. de la mezcla por maceta donde se colocaron 2 plantas de tomate (Fig. 5) inoculadas. diariamente se regaron las plantas y fueron fertilizadas con Nitrato de Calcio 0.05 gr/L, Sulfato de Manganeso 0.24 gr/L. Nitrato de Potasio 0.15 gr/L. Así mismo se realizada una evaluación visual para identificar los primeros síntomas de la bacteria en la planta, a los 19 días se observaron los primeros síntomas en las hojas amarillentas y enrollamiento de las hojas la primera evaluación se realizó a las 26 días después de la inoculación y una segunda evaluación a los 34 días después de la inoculación y posterior a la evaluación de la severidad de los daños se realizó la evaluación destructiva donde de cada planta se realizaron cortes (Fig. 6). y se colocaron pequeños cortes a las plantas con la ayuda de un bisturí estéril y se colocaron los pequeños trozos de planta con el síntoma en viales de 2 ml. con 1 ml. De agua destilada estéril Y con la ayuda de un pistilo estéril se macero con un asa bacteriológica de ómicron de 1X1000 se sembró rallado en placas con medio de cultivo Mueller Hinton donde la bacteria se desarrolló y a las 96hrs. Se tomo una colonia de cada placa y se conservó la bacteria en buffer de fosfatos y se conservan a 4C. para futuras siembras o inoculación.

Figura 3. Frutos con daños avanzados de Cmm. A este nivel de daño la bacteria ya está presente en semilla se puede observar el amarillamiento por las nervaduras del fruto maduro y fruto verde.

Figura 4. Bacteria de 4 días de crecimiento y picadientes impregnado con la bacteria, Picadientes en la axila de la planta.

Figura 5. Dos plantas con Cmm fueron inoculadas por maceta.

Figura 6. Cortes realizados a la planta y parte interna donde presenta un color oscuro y se desprende muy fácil la testa del tallo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se lograron coleccionar un total de 60 muestras de los diferentes estados productores de tomate a nivel nacional las cuales se encuentran conservadas en el cerapio del laboratorio de fitopatología del Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo, Coordinación Culiacán (CIAD), del total de las muestras 2 cepas no presentaron el gen Pat-1 las cepas fueron la 84 y 98 que resultaron ser muy patogénicas en las plántulas inoculadas presentando un nivel 4 de severidad del daño a los 34 días después de inoculadas.

CEPAS	Cm3	Cm4	Inoculadas	Mucoide	Tamaño	Color
645pb Pfc3-pfc5						
551pb Pat-1						
614pb Chpc						
639pb ppaA						
587pb tomA	529pb					
01	+	+	+	+	N	G A
02	+	+	+	+	N	M C
03	+	+	+	+	N	M A
04	+	+	+	+	N	M A
05	+	+	+	+	N	M A
06	+	+	+	+	N	M A
07	+	+	+	+	N	M A
08	+	+	+	+	S	M A
09	+	+	+	+	N	G A
12	+	+	+	+	N	M A
13	+	+	+	+	S	M C
14	+	+	+	+	N	G C
15	+	+	+	+	N	M A
16	+	+	+	+	S	M AN
19	+	+	+	+	S	G AN
20	+	+	+	+	S	M A
21	+	+	+	+	S	G A
26	+	+	+	+	N	M C
36	+	+	+	+	N	M C
38	+	+	+	+	S	M A
39	+	+	+	+	S	Ch AN
41	+	+	+	+	S	G AN

42	+	+	+	+	+	+		N	G	A
43	+	+	+	+	+	+	+	N	G	C
48	+	+	+	+	+	+				
49								N	M	A
67	+	+	+	+	+	+				
68	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
69	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
70	+	+	+	+	+	+	+	N	G	C
71	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
72	+	+	+	+	+	+	+	N	Ch	A
74	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
76	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
78	+	+	+	+	+	+	+	N	G	C
79								N	G	A
80	+	+	+	+	+	+	+	N	M	A
81	+	+	+	+	+	+	+	N	M	A
82	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
83	+	+	+	+	+	+		N	G	A
84	+	+	-	+	+	+	+	N	M	A
85	+	+	+	+	+	+		N		
92	+	+	+	+	+	+	+	N	M	AN
93	+	+	+	+	+	+		S	M	C
94	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
95	+	+	+	+	+	+		N	G	A
97	+	+	+	+	+	+	+	N	ch	AN
98	+	+	-	+	+	+	+	N	G	AN
101	+	+	+	+	+	+	+	N	G	A
102	+	+	+	+	+	+	+	N	G	A
105	+	+	+	+	+	+	+	N	G	AN
106	+	+	+	+	+	+	+	N	M	AN
107	+	+	+	+	+	+	+	N	M	A
108	+	+	+	+	+	+	+	N	M	AN
110	+	+	+	+	+	+	+	N	M	AN
111	+	+	+	+	+	+	+	N	Ch	A
113	+	+	+	+	+	+	+	N	Ch	AN
114	+	+	+	+	+	+	+	N	M	AN
115	+	+	+	+	+	+	+	N	Ch	C
116							+	N	Ch	AN

CONCLUSIONES

En las cepas trabajadas en el presente trabajo se buscaron los genes encargados de la patogenicidad mediante PCR.

Se determinó que el 97% de las plantas presentaron todos los genes de patogenicidad y el 1.7 % de las cepas no fueron patogénicas

LITERATURA CITADA

Baysal, Ö., Mercati, F., I?kten, H., Yildiz, R., Carimi, F., Aysan, Y., Teixeira da Silva, J. (2010) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: tracking strains using their genetic differentiations by ISSR markers in Southern Turkey *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 75, 113–119.

Flores, J. B., Rueda Puente, E. O., Félix, E. A., Ponce, J. F., Cruz, M., Juárez, O. G., & Garciacute; a Ortega, A. M. (2009). Detección de *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis* en el tomate del estado de Sonora, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(4), 319–326

Sousa Santos, M.; Cruz, L.; Norskov, P.; Rasmussen, O. F. 1997. A rapid and sensitive detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds by polymerase chain reaction.

Trejo D. S. J. 2014. Identificación Fenotípica y Genética de los factores de virulencia de Cepas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Aisladas de Plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Cultivadas en México. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Culiacán, Sinaloa.

EVALUACIÓN DE UNA FUENTE ESTANDARIZADA DE SUPLEMENTOS DE ACEITES ESENCIALES (CRINA®DSM) EN COMPARACIÓN CON LA SUPLEMENTACIÓN DE MONENSINA EN CORDEROS ALIMENTADOS CON UNA DIETA ALTA EN ENERGÍA EN LA FASE DE FINALIZACIÓN.

Yesica Janeth Arteaga Wences¹, Dr. Alfredo Estrada Angulo¹, Dr. Alejandro Plascencia Jorquera², Dr. Luis Corona Gochi³, Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez¹, Dr. Francisco Gerardo Ríos Rincón¹

1 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa.

2 Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California.

3 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

INTRODUCCIÓN

Desde la aprobación a mediados de la década de 1970 de la monensina como aditivo alimenticio para dietas de rumiantes, el uso de ionóforos en las dietas de engorda se ha expandido rápidamente y en la actualidad, los ionóforos (particularmente monensina) están incluidos en la mayoría de los programas de alimentación convencionales en corral en México y Estados Unidos. Alimentar a los rumiantes con monensina produce una mejora en la eficiencia de la alimentación (Moody et al., 2011) como consecuencia de un cambio en los patrones de fermentación ruminal hacia el aumento de propionato y la disminución de las proporciones molares de acetato (Bergen y Bates, 1984; Russell y Strobel, 1988) y por reducción de la degradación de proteínas en el rumen, aumentando el flujo de N amoniacal al duodeno (Zinn, 1988). Sin embargo, la magnitud de la respuesta a la suplementación de monensina en dietas de alta energía (> 1.37 Mcal NEg / kg) ha sido más variable, y con frecuencia bastante modesta o incluso eliminada (Zinn et al., 1994; Duffield et al., 2012).

Sin embargo, la monensina todavía se utiliza ampliamente en dietas de finalización como estrategia de alimentación (Samuelson et al., 2016) bajo el argumento de sus propiedades potenciales como preventivo de la acidosis ruminal subaguda (y abscesos hepáticos) en ganado de engorda (Beacom et al., 1988.), y en corderos en corral (Safei et al., 2014). Además, la suplementación con monensina ha mostrado efectos positivos esto por la reducción de la energía neta del coeficiente de mantenimiento en ganado terminado bajo temperatura ambiente de carga elevada (Barreras et al., 2013). Sin embargo, en la actualidad la principal preocupación de los consumidores está relacionada con la práctica de la industria ganadera con el uso de antibióticos en las formulaciones de alimento para el ganado, esto ha incrementado las preocupaciones de los consumidores hacia carne y productos cárnicos más saludables y la demanda de aditivos naturales para alimentos; por lo tanto, en años recientes ha aumentado el interés en la búsqueda de alternativas generalmente reconocidas como seguras que puedan reemplazar efectivamente estos compuestos. En este sentido, el uso de compuestos de aceites esenciales (EOC; tales como timol, limoneno, eugenol, piperina, entre otros) ha demostrado propiedades antimicrobianas selectivas que resultan en la disminución de la tasa de fermentación

ruminal de almidón, aumenta la relación propionato: acetato, reducciones en la medida en que las proteínas se degradan en el rumen, y evitando el crecimiento de bacterias que convierten los valiosos aminoácidos en residuos de amoníaco (Cardozo et al., 2005; Meyer et al., 2009; Giannenas et al., 2011; Saed-Samii et al. ., 2016, Meschiatti et al., 2016). Estos efectos, teóricamente favorecen una mayor eficiencia de ganancia en etapa de finalización del ganado con dietas de alta energía y se podría esperar el reemplazo de la inclusión de monensina en las dietas sin disminuir la eficiencia de la utilización de energía de los aditivos.

HIPÓTESIS

La suplementación de aceites esenciales (CRINA®DSM) en comparación con la inclusión de monensina en las dietas, mejora el comportamiento productivo de corderos terminados con dietas altas en energía en la fase de finalización.

METODOLOGÍA

Experimento 1.

Este experimento se realizará en la Unidad de Investigación de Corderos de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en Culiacán, México (24 ° 46 '13 "N y 107 ° 21' 14" W). Culiacán está a unos 55 m sobre el nivel del mar, y tiene un clima tropical. Todos los procedimientos de manejo de animales se llevarán a cabo siguiendo las pautas de las técnicas aprobadas localmente para el uso y cuidado de los animales.

Análisis de animales, dietas y muestras

Se utilizarán 36 corderos machos enteros de la raza Pelibuey x Katahdin (~ 35 kg PV) en un experimento de comportamiento productivo con una duración de 56 días. Dos semanas antes del inicio del experimento, los corderos serán tratados contra parásitos con (Albendaphorte 10%, Salud Animal y Bienestar, Ciudad de México, México), inyectados con 1x10⁶ UI de vitamina A (Synt-ADE®, Fort Dodge, Animal Health, México DF, México), y se vacunarán contra *Mannheimia haemolytica* (One shot Pfizer, Ciudad de México, México). Al inicio del experimento, los corderos se pesarán antes de la comida de la mañana (balanza electrónica: TORREY TIL / S: 107 2691, TOR REY Electronics Inc, Houston TX, EE. UU.) Y se asignarán a una de las seis agrupaciones de peso en 18 corrales, con dos corderos por corral y 6 réplicas por tratamiento. Las corraletas serán de 6 m² cubiertas totalmente con sombra, comederos en línea de 1m y bebederos llenados manualmente. Los tratamientos estarán formulados para evaluar las respuestas de los corderos de finalización a la suplementación de dos aditivos: 1) compuestos de aceites esenciales (EOC), 2) monensina sódica (MON). La dieta basal estará compuesta a base de maíz quebrado y se complementará con aditivos de la siguiente manera: 1) Sin aditivos (Control); 2) dieta basal suplementada con monensina sódica en dosis de 20 mg de monensina sódica / cordero / día (MON, Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN), y 3) dieta basal suplementada con una fuente estandarizada de una mezcla de compuestos de aceites esenciales (EOC) a dosis de 150 mg EOC / cordero / día (EOC, CRINA®Ruminants, DSM Nutritional Products, Basilea, Suiza). Los tratamientos experimentales se asignarán al azar a las corraletas dentro de los bloques. Los corderos

serán pesados antes de la comida de la mañana el día 1 y el día 56 (sacrificio). Las dosis de los aditivos se pesarán manualmente usando una balanza de precisión (Ohaus, mod AS612, Pine Brook, NJ, EE. UU.) Y se pre mezclarán durante 5 min con ingredientes menores (urea, piedra caliza y sal de trazas minerales) antes de la incorporación en dietas mixtas. El producto final se mezclará con el resto de los ingredientes en una mezcladora de paletas de 2.5 m³ de capacidad (modelo 30910-7, Coyoacán, México). Para evitar la contaminación, el mezclador se limpiará a fondo entre cada tratamiento. Para garantizar el consumo de la dosis planificada, se proporcionará la dosis diaria total de aditivos de cada tratamiento en la alimentación matutina. Los corderos recibirán alimento dos veces al día a las 0800 y 1400 h en una proporción de 30:70, y se realizarán ajustes en la alimentación de la tarde para permitir un rechazo de alimento mínimo (~ 50 g / kg). Los comederos se evaluarán visualmente entre las 07:40 y 07:50 horas de la mañana, se recogerá el rechazo y se pesará, esto para determinar el consumo de alimento. El consumo de agua se medirá diariamente a las 0700 hrs am mediante la inmersión de una varilla graduada en el bebedero, una vez que se tome la medida, se drenará el agua restante, y los bebederos de rellenarán de nuevo con agua limpia

Las muestras de alimento se recogerán diariamente para realizar el análisis de MS, el secado de las muestras será en un horno donde la temperatura será de 105 ° C hasta que no se produzca más pérdida de peso (método 930.15, AOAC 2000). CP (N x 6.25, método 984.13; AOAC, 2000); cenizas (método 942.05; AOAC, 2000); aNDFom [Van Soest et al., 1991, corregida para NDF-cenizas, que incorpora a-amilasa estable al calor (Ankom Technology, Macedon, NY) a 1 ml por 100 ml de solución de FDN (Midland Scientific, Omaha, NE)]; y extracto de éter (método 920.39; AOAC, 2000).

Cálculos

Las estimaciones de consumo y la energía esperada de la se realizarán en base al peso corporal ajustado estimado inicial y final (PVA), para convertir a una base PVA, es del 96% del peso completo (Cannas et al., 2004). Las ganancias diarias promedio (GDP) se estimará restando el PV inicial del PV final y dividiendo el resultado entre el número de días en el corral. La eficiencia de la ganancia de PV se calculará dividiendo ADG por el consumo diario. La estimación de consumo esperado se realizará en función de GDP y PVA observados de acuerdo con la siguiente ecuación: Consumo esperado, kg / día = (EM / NEm) + (EG / NEg), donde EM (energía requerida para mantenimiento, Mcal / día) = 0.056 x SBW^{0.75} (NRC, 1985), EG (ganancia de energía, Mcal / d) = 0.276 x ADG x SBW^{0.75} (NRC 1985), NEm y NEg son 2.09 y 1.43 Mcal / kg, respectivamente (derivado de los valores tabulares basado en la composición de ingredientes de la dieta experimental: NRC, 1985, y SBW representan BW completo x 0.96, Cannas et al., 2004). El coeficiente (0.276) se estimará suponiendo un peso maduro de 113 kg para los corderos machos Pelibuey x Katahdin (Canton y Quintal, 2007). La energía neta (EN) se estimará por medio de la fórmula cuadrática:

Donde: $x = NEm$, $a = -0.41EM$, $b = 0.877 EM + 0.41 DMI + EG$, y $c = -0.877 DMI$ (Zinn et al., 2008).

Características de la canal y calidad de la carne (pH y color de la carne)

Después del sacrificio, los corderos serán despielados, y los órganos gastrointestinales (TGI) serán separados y pesados. Posteriormente las canales de los corderos serán refrigeradas durante 48 h a una temperatura de -2 a 1 ° C, al sacar las canales se obtendrán las siguientes medidas: (1) longitud de la canal (distancia máxima entre el borde del isquio-pubis sínfisis y borde anterior de la primera costilla en su punto medio); (2) profundidad de la canal (distancia máxima entre el esternón y la parte posterior de la canal, a nivel de la sexta vértebra torácica); (3) longitud de la pierna (distancia desde la sínfisis del pubis hasta la articulación tarso-metatarsiana); (4) grosor de la pared del cuerpo (distancia entre las costillas 12 y 13 más allá de la chuleta, a cinco pulgadas de la línea media de la canal); (5) espesor de grasa perpendicular al longissimus thoracis (LM), medido sobre el centro del área del ojo de la chuleta entre las costillas 12 y 13; (6) Área de superficie LM, medida usando una lectura de cuadrícula del área de la sección transversal del área de la chuleta entre la 12 a y la 13 a costilla, y 7) la grasa renal, pélvica y cardíaca (KPH). El KPH se extraerá manualmente de la canal. Se tomarán dos filetes de LM (aproximadamente de 3 a 5 cm de grosor) de cada canal (cuatro por tratamiento) entre la interfaz 12a y 13a de la costilla, se congelarán inmediatamente en hielo seco y se enviarán al laboratorio de calidad de la carne. Las variables medidas incluyen pH y color. Para el análisis de pH, se usará un medidor de pH portátil con un electrodo de punción (Delta Track Inc., ISFET pH 101, Pleasanton, CA). Los valores de color L * (claridad), a * (enrojecimiento) y b * (amarillez) se determinarán utilizando un espectrofotómetro Minolta CM-2002 (Minolta Camera Co., Ltd, Osaka, Japón), utilizando un componente especular integrado (SCI), un iluminador D65 y un observador de 10 °. El croma (C *) y el ángulo de matiz (h °) se estimarán como $C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$, y $h^{\circ} = \tan^{-1}(b^* / a^*)$

Análisis estadístico

Se analizará el rendimiento (ganancia, eficiencia de ganancia y energía dietética) y los datos de la canal como un diseño de bloques completos al azar. La unidad experimental es el corral. El procedimiento MIXED de SAS (SAS Institute, 2004) se usará para analizar las variables. El efecto fijo sera el tratamiento y la corraleta sera efecto aleatorio. Las diferencias se considerarán significativas cuando el valor P sea = 0.05, y las tendencias se identificarán cuando el valor P sea > 0.05 y = 0.10.

Experimento 2.

El experimento se llevará a cabo en la Unidad Experimental de Metabolismo de Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Todos los procedimientos que involucren animales vivos se llevarán a cabo siguiendo las pautas de las técnicas oficiales locales aprobadas de cuidado de los animales. (NOM-051-ZOO-1995: Cuidado humanitario de animales durante la movilización de animales; NOM-062-ZOO-1995. Especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Ganaderías, granjas, centros de producción, reproducción y cría, zoológicos y sala de exposiciones, deben cumplir con los principios básicos del bienestar animal; NOM-024-ZOO-1995: Estipulaciones y características de la salud animal durante el transporte de animales.

Análisis de animales, dietas y muestras

Se utilizarán cuatro corderos machos (Pelibuey × Katahdin, peso inicial aproximado de ± 25 kg) con cánulas de tipo "T" en el rumen, bajo un diseño de cuadrado latino 4x4 para evaluar los efectos de los tratamientos en las poblaciones de *Clostridium aminophilum* y *C. sticklandii* (bacterias que producen híper amoníaco), fermentación ruminal y digestión total del tracto en corderos alimentados con dietas de finalización. Los tratamientos experimentales serán como el experimento 1 con la excepción de la inclusión de 0,3% de óxido crómico como marcador de digesta. Las dosis de los tratamientos se pesarán a mano utilizando un equilibrio de precisión (Ohaus, mod AS612, Pine Brook, NJ, EE. UU.) Y se agregarán en proporciones iguales a la dieta basal en el momento de la alimentación. Los corderos se adaptarán a la dieta basal durante 14 días antes del inicio de la prueba. Para evitar rechazos, el consumo de alimento (como alimento base) se restringirá al equivalente del 90% de la ingesta ad libitum de corderos durante el período preliminar de 14 días). Los corderos se mantendrán alojados en corraletas individuales con medidas de (1.2 × 1.6 × 0.7 m) en una instalación cubierta con acceso al agua en todo momento. El alimento se ofrecerá en dos proporciones iguales a las 08:00 y a las 20:00 horas todos los días. Los períodos experimentales serán: 1) el período de ajuste de la dieta de 18 días (los primeros 7 días de cada período el aditivo se retirará). 2) Seguido de un período de recolección de 3 días. Durante el período de recolección, se tomarán muestras fecales y ruminales de cada cordero. Las muestras de cada cordero y dentro de cada período de recolección serán compuestas para su análisis. Se tomarán muestras de heces (colección total) durante tres días consecutivos utilizando una bandeja de piso dentro de un período de 12 h (de 0800 h a 2000 h). Las heces se pesarán, identificarán y se congelarán a -20 ° C para posterior análisis. Para determinar el pH ruminal, N-NH₃ y VFA en un día de cada período de recolección, se obtendrá una muestra de contenido ruminal de cada cordero a las 0, 2 y 4 horas después de la alimentación a través de la cánula ruminal. Se tomará una muestra ruminal del saco ventral ruminal mediante una bomba de vacío (Cole Parmer Instrument, Vernon Hill, IL) usando un tubo de tión (¾ "; USP Lima, Ohio), y el pH se determinará en muestras frescas (Orion 261S, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Las muestras ruminales se colarán a través de 4 capas de tela de manta de cielo utilizada en la industria del queso. Se agregarán dos ml de ácido metafosfórico al 25% recién preparado (p / v) a 8 ml de fluido ruminal estrujado. Las muestras se centrifugarán (17,000 × g durante 10 min) y el líquido sobrenadante se almacenará a -20 ° C para el análisis de AGV. Ruminal N-NH₃ se determinará inmediatamente en muestras frescas después de tomar el líquido ruminal. Las muestras de alimentos y las fecales se someterán a los siguientes análisis: MS (secado en horno a 105 ° C hasta que no haya más pérdida de peso, método 930.15, AOAC, 2000); PC (N × 6.25, método 984.13; AOAC, 2000); cenizas (método 942.05; AOAC, 2000); aNDFom [Van Soest et al., 1991, corregida para FDN-cenizas, que incorpora a-amilasa estable al calor (Ankom Technology, Macedon, NY) a 1 ml por 100 ml de solución de NDF (Midland Scientific, Omaha, NE)]; extracto de éter (método 920.39; AOAC, 2000); almidón (Zinn, 1990). Las concentraciones ruminales de AGV se evaluarán mediante cromatografía de gases (Zinn, 1988) y N-NH₃ en el fluido ruminal se determinará mediante procedimientos adaptados de Fawcett y Scott (1960).

Identificación y población de HAB (*C. aminophilum*, *C. sticklandii* y *P. anaerobius*)

La identificación y la población de HAB se realizará de la siguiente manera:

Extracción de ADN

El ADN genómico total se extraerá de muestras de fluido de digesta ruminal. Brevemente, las muestras de digesta ruminal se filtrarán a través de dos capas de tela de muselina. Una muestra de 300 µl de fluido ruminal estará sujeta a la lisis celular mediante tres tratamientos de 30 segundos de pulido de perlas con intervalo de dos minutos en hielo. Los tubos se centrifugarán a 5000 x g durante cinco minutos y el sobrenadante utilizado para extraer el ADN genómico utilizando el kit de purificación de ADN (Promega, Madison, WI, EE. UU.) De acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN eluido se disolverá en tampón estéril, se cuantificará utilizando el espectrofotómetro NanoDrop-1000 (Fisher) y se almacenará a -20 °C hasta los experimentos de RT-PCR.

Diseño de primers y sondas

Los primers y las sondas que se utilizarán en el presente trabajo se diseñarán para detectar las secuencias específicas del ARN ribosómico 16S de la cepa ATCC 27337 de *Peptostreptococcus anaerobius* (NCBI Reference Sequence: NR_118652.1), cepa DSM 519 de *Clostridium sticklandii* (NCBI Reference Sequence: NR_102880.1) y la cepa F de *Clostridium aminophilum* (secuencia de referencia NCBI: NR_118651.1). Cada sonda molecular específica se diseñará con una secuencia de 20 nucleótidos con 5'-FAM-3'-TAMRA utilizada como fluoróforo y extintor, respectivamente (Tabla 1) utilizando el software Primer3.

Tabla 1. Primers y sondas diseñadas para detectar bacterias ruminales productoras de amoníaco

Organismo	Primer 5'-FAM-3'-TAMRA Probe	Reverse primer
<i>C.aminophilum</i>		
Amplicon		
size = 114	CCACATTGGGACTGAGACAC CCGAAATACTTCATCGCTCA	ACTCTGATGCAGCGACGCCG
<i>C. sticklandii</i>		
Amplicon		
size= 106	TGGTTTAATTCGAAGCAACG CACCACCTGTACCTTTGTC	TGCAAAGCCCTTAACCGGGC

Ensayo de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

Las diluciones de ADN genómico purificado a partir de la cepa de referencia de control de la cepa ATCC 27337 de *Peptostreptococcus anaerobius* se usarán para construir una curva de calibración. Todas las muestras se analizarán por duplicado y controles por triplicado. La amplificación del ADN se llevará a cabo en un volumen final de 25 µl en un termociclador BioRad CFX96 PCR en tiempo real con un protocolo de amplificación de 40 ciclos de tres pasos que consta de 30 s a 95 °C, 1 min a 55 °C y 30 s a 72 °C. Los datos de fluorescencia se recogerán al final de la etapa de hibridación, a una longitud de onda de excitación y emisión de 490 y 530 nm, respectivamente. Los resultados se analizarán utilizando el software del sistema de detección CFX96 (Bio-Rad).

Diseño estadístico y análisis

Los efectos de los tratamientos sobre las características de la digestión, VFA y población bacteriana en corderos se analizarán como un diseño cuadrado latino de 4 x 4 usando el procedimiento MIXED (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El efecto fijo será el tratamiento y el efecto aleatorio será el cordero y el período.

LITERATURA CITADA

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, MD. (Consulta, Marzo 2019) <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>.

Barreras, A., B.I. Castro-Pérez, M.A. López Soto, N. G. Torrentera, M.F. Montaña, A. Estrada-Angulo, F.G. Ríos, H. Dávila-Ramos, A. Plascencia, and R. A. Zinn. 2013. Influence of ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics in finishing cattle during period of heat stress. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 26: 1553-1561. DOI: 10.5713/ajas.2013.13216.

Beacom, S. E., Z. Mir, G. O. Korsrud, W. G. D. Yates and J. D. MacNeil. 1988. Effect of the feed additives chlortetracycline, monensin and lasalocid on feedlot performance of finishing cattle, liver lesions and tissue levels of chlortetracycline. *Can. J. Anim. Sci.* 68: 1131-1141. <https://doi.org/10.4141/cjas88-129>.

Bergen, W. G., and D. B. Bates. 1984. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.* 58: 1465-1483. <http://vet.unicen.edu.ar/ActividadesCurriculares/ProduccionBovinosCarneLeche/images/Documentos/Alimentaci%C3%B3n%20Rumiantes/Alvarado/aditivos/J%20ANIM%20SCI-1984-Bergen-1465-83.pdf>. (Consulta, Marzo 2019)

Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell A.N., Van Soest, P.J., 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. *J. Anim. Sci.* 82,149-169.

Canton, J.G., and Quintal, J.A., 2007. Evaluation of growth and carcass characteristics of pure Pelibuey sheep and their cross with Dorper and Katahdin breeds. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 1), 581. (Abstr.). (Consulta, Marzo 2019) <https://pdfs.semanticscholar.org/f56e/1f5e102e35f2781227d10fa2ba4a26f3dfe9.pdf>

Cardozo, P. W., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83:2572–2579. DOI: 10.2527/2005.83112572x.

Duffield, T.F., J. K. Merrill and R.N. Bagg. 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 90: 4583-4592. DOI: 10.2527/jas.2011-5018.

Giannenas, I., Skoufus, J., Giannakopoulos C, Wiemann, M., Gortzi, O., O. Ialas, and S. Kyruzakis. 2011. Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *Skoufus J. Dairy Science.* 94:5569-5577. DOI: 10.3168/jds.2010-4096

Meschiatti, M.A.P. L. A. Pellarin, C. D. A. Batalha, T. S. Acedo, L. F. M. Tamassia, C. S. Cortinhas, V. N. D. Gouvea, F. A. P. Santos, and J. R. Dórea. 2016. Effects of essential

oils and exogenous enzymes on intake, digestibility, and rumen fermentation in finishing Nellore cattle: *J. Anim. Sci.* Vol. 94, E-Suppl. 5:759.

Meyer, N.F., G. E. Erickson, T. J. Klopfenstein, M. A. Greenquist, M. K. Luebbe, P. Williams, and M. A. Engstrom. 2009. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *J. Anim. Sci.* 87:2346–2354. DOI: 10.2527/jas.2008-1493.

Modi, S.K. Mody, H.B. Patel, G.B. Dudhatra, Avinash Kumar, and T.J. Sheikh. 2011. Growth promoting use of antimicrobial agents in animals. *J. Applied Pharm. Sci.* 1:33-36.

Neville TL, Ward MA, Reed JJ, Soto-Navarro SA, Julius SL, Borowicz PP, Taylor JB, Redmer DA, Reynolds LP, Caton JS. 2008. Effects of level and source of dietary selenium on maternal and fetal body weight, visceral organ mass, cellularity estimates, and jejunal vascularity in pregnant ewe lambs *J. Anim. Sci.* 86:890-901. DOI: 10.2527/jas.2006-839.

NRC. 1985a. Nutrient requirement of sheep. 6th ed. National Academy Press. Washington, DC.

NRC. 2007. Nutrient requirement of small ruminant. Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. National Academy Press. Washington, DC.

Russell, J.B. and H. J. Strobel. 1988. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. *J. Anim. Sci.* 66: 552-558.

Saed Samii, S., N. Wallace, T. G. Nagaraja, M. A. Engstrom, M. D. Miesner, C. K. Armendariz, and E. C. Titgemeyer. 2016. Effects of limonene on ruminal *Fusobacterium necrophorum* concentrations, fermentation, and lysine degradation in cattle. *J. Anim. Sci.* 94:3420-3430. DOI: 10.22256/pubvet.v12n4a80.1-11

Safaei, Kh, A.M. Tahmasbi, and Gh. Moghaddam. 2014. Effects of high concentrate:forage ratio diets containing monensin on the management of ruminal acidosis in Gezhel lambs. *Small Rum. Res.* 121:183-187.

Samuelson, K.L., M. E. Hubbert, M. L. Galyean, and C. A. Löest. 2016. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 94:2648–2663. DOI: 10.2527/jas.2016-0282.

SAS, 2007. User's Guide: Statistics Version 9, 6th ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

USDA, 1982. Official United States Standards for Grades of Carcass Lambs, Yearling Mutton and Mutton Carcasses. Agric. Marketing.

Zinn, R. A. 1988. Comparative feeding value of supplemental fat in finishing diets for feedlot steers supplemented with and without monensin. *J. Anim. Sci.* 66: 213–227. <https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1102729>.

Zinn, R. A., A. Plascencia and R. Barajas. 1994. Interaction of forage level and monensin in diets for feedlot cattle on growth performance and digestive function. *J. Anim. Sci.* 72: 2209–2215. DOI: 10.2527/1994.7292209x

Zinn, R.A., Shen, Y., 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J. Anim. Sci.* 76, 1280–1289.

EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN DEL IMPLANTE HORMONAL, DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y CARACTERÍSTICAS DE CANAL DE BOVINOS EN SINALOA

Gamaliel Molina Gámez 1, Horacio Dávila Ramos¹, José Adrian Félix Bernal¹, Juan Carlos Robles Estrada¹, Jesús José Portillo Loera¹.

Maestría en Ciencia Agropecuarias, ¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.
gamalielmolinagamez@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El crecimiento demográfico que se ha ido presentando en los últimos años ha sido exponencial; está previsto que la población mundial se incremente en más de 1,000 millones de personas en los próximos 15 años, por lo que se alcanzarán los 8,500 millones en el año 2030, 9,700 millones en 2050 y 11,200 millones en 2100 (ONU, 2017); por lo que es de suma importancia, incrementar la producción de alimentos en general. Sinaloa se encuentra en el 4to lugar nacional como productor de carne de bovino (AMEG, 2017), y este crecimiento se ha debido, en parte, a la utilización de biotecnologías que incrementan la eficiencia productiva de los bovinos en engorda. Dentro de éstas, se encuentran los implantes hormonales, los cuales se han utilizado durante más de 50 años en la engorda intensiva de bovinos (Zobell et al., 2000), con el objetivo de mejorar ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia; observando incrementos en promedio de 21% en la ganancia diaria de peso y de 13% en la eficiencia alimenticia (Ocampo y Garcés, 2010). Sin embargo, una inadecuada aplicación de los implantes puede ocasionar abscesos en el sitio de aplicación y una mala condición del implante (mal situados, parciales, incrustados en cartílago, amontonados, encapsulados y pérdida del implante (Páez, 2006) en el sitio de colocación, lo que se ha denominado “falla de implante”, ocasionando doble pérdida, primero por la inversión del implante y segundo por la pérdida en los beneficios productivos de esta tecnología (Barajas et al., 2010). Al respecto, se ha informado que la presencia de abscesos mayores al 30% se reflejan en pérdidas económicas estimadas en 15.1 (Barajas et al., 2010) y 22.50 dólares por animal (Anderson y Botts, 2002). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación será evaluar la condición del implante hormonal en el sitio de colocación en el desempeño productivo y características de canal de bovinos en la región centro norte del estado de Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción mundial de carne de bovino ha mantenido una tendencia de crecimiento anual en un 1.4 %, a su vez México creció en una tasa promedio anual de 1.8 % (FIRA, 2017). Por tal motivo el uso de biotecnologías nos ha permitido obtener mayores ganancias diarias de peso (28 %) (Preston et al., 1995) y mayor eficiencia alimenticia (16 %) (Barajas et al., 2010). Los implantes hormonales, que promueven el crecimiento animal en la producción, se han utilizado ampliamente en la producción de carne de vacuno durante más de 50 años (Gómez, 2006). A pesar de esto, la formación de abscesos en los sitios de implantación es común en los corrales de engorda y se considera como falla del implante por una mala técnica de aplicación, lo que ocasiona

doble pérdida por la inversión del implante y por no obtener los beneficios esperados; los abscesos son la principal falla encontrada pero también se puede encontrar fallas como implantes perdidos, parciales, incrustados en cartílago, amontonados, quebrados, mal situados y encapsulados y el porcentaje de ese error supera un 30 % (Paez, 2006 , Dicke et al., 2004). Por otra parte, el último estudio evaluando esta condición del implante en esta región del país, fue en el año 2010 (Barajas et al., 2010) por lo que es de importancia seguir estudiando estos fenómenos para la implementación de estrategias que permitan reducir las pérdidas económicas a la industria de la producción de carne.

HIPÓTESIS

La condición inadecuada del implante hormonal en el sitio de colocación será igual o mayor al 30 % en el ganado bovino de engorda de la región centro norte del estado de Sinaloa.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la condición del implante hormonal en el sitio de colocación en el desempeño productivo y características de canal de bovinos en la región centro norte del estado de Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la condición del implante en el sitio de colocación de bovinos en la región centro norte del estado de Sinaloa.

Determinar el desempeño productivo de bovinos en la región centro norte del estado de Sinaloa.

Determinar las características de la canal de bovinos en la región centro norte del estado de Sinaloa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los procedimientos de manejo serán conducidos dentro de la guía de cuidado para los animales según la normativa vigente (NOM-051-ZOO-1995, NOM-062-ZOO-1995, y NOM-024-ZOO-1995).

Localización del área de estudio

El estudio se llevara a cabo en la unidad experimental de engorda de ganado bovino de Ganadera Rubio S.P.R. de R.L., ubicada en la carretera México 15, El burrión, Guasave, Sinaloa y se localiza entre las coordenadas GPS: (25.5797952 y 108.4635028), con una temperatura media anual de 25.1 °C, con una máxima de 43.0°C y una mínima de 3.0° con una precipitación pluvial anual media de 392.8 milímetros (máxima de 760.03 y mínima de 231.1 mm) (INEGI, 2018).

Evaluación del desempeño productivo

Se realizara un estudio observacional donde se utilizarán 327 toretes encastados de Cebú con peso aproximado de 350 kg, provenientes de lote que serán implantados con trembolona y estradiol (Revalor ; Intervet) a la llegada al corral, los cuales serán alimentados con dietas de crecimiento durante 84 días, previos al inicio del experimento. A los animales se les revisará la condición del primer implante por palpación en la oreja, en caso de que se detecten orejan con una falla en la condición del implante no serán incluidos en la prueba de reimplante.

Los animales seleccionados serán pesados y reimplantados en la oreja izquierda con 120 mg de acetato de trembolona y 24 mg de estradiol (Revalor ; Intervet), aplicando procedimientos de limpieza y desinfección durante el implante. Diariamente se registrará la temperatura y humedad relativa promedio, máxima y mínima durante el periodo de duración del estudio. Así mismo, los toretes se agruparán por peso corporal 20 grupos de 5 animales, siendo alojados en 20 corrales (6 x 12 m) donde serán alimentados con una dieta de finalización (13 % de PC, 1.5 Mcal de ENg/kg de MS, ofrecida en una proporción 35:65 en horarios de 9 y 14 h. Semanalmente se tomará muestras del alimento (3 kg), directamente del carro mezclador y secadas en horno a (105 °C por 48 h) por triplicado para determinar la materia seca. El consumo del alimento por corral se calculara como el ofrecido, menos el rechazo semanal acumulado.

Los animales serán pesados cada 28 días. La ganancia diaria de peso (GDP; kg/día), se obtendrá dividiendo el peso final durante el período de prueba entre los días que dure la investigación. La conversión alimenticia fue estimada por la relación directa del consumo diario de materia seca entre la ganancia diaria de peso (Barajas et al., 2010).

Evaluación de la condición del implante hormonal

Una vez completado el tiempo de 84 días en corral, los animales serán sacrificados en el rastro Tipo Inspección Federal TIF 651 del municipio de Guasave, Sinaloa. La oreja izquierda será retirada, se realizara un incisión y la condición del implante será evaluada. Los criterios de condición de implante serán los siguientes: correctamente aplicado, abscesados, mal situados, parciales, incrustados en cartílago, amontonados, encapsulados y pérdida del implante (Páez, 2006).

Las orejas se recolectarán en bolsas plásticas con su identificación y transportadas a la sala de cortes de la FMVZ-UAS para evaluar concordancia entre la palpación en la sala de cortes y la palpación a la velocidad de la cadena en rastro y el observador será cegado a los resultados que anteriormente obtenidos (Berry et al., 2002).

Determinación de las características de la canal

El peso de la canal caliente se obtendrá, calculando el rendimiento en canal como % del peso vivo. Después de 24 horas en cuarto frío a 2 °C, se utilizará el lado izquierdo de la canal, donde se realizará un corte transversal en el músculo Longissimus dorsi entre la 12

va y 13 va costilla, se medirá el espesor de la grasa dorsal (cm), y el área del ojo de la costilla (AOC) (cm²) será medido por lectura directa con gradilla oficial, el grado de marmoleo se calificará en ligero, pequeño o modesto por comparación visual con las fotografías de referencia del manual y la cantidad de grasa del riñón, corazón y pelvis (GRP) será evaluada visualmente y de acuerdo a su longitud y grosor, se expresará como porcentaje del peso de la canal (USDA, 1996).

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra se determinará con base a la estimación de las proporciones con la siguiente fórmula.

Donde:

n= Tamaño de la muestra buscado

N=tamaño de muestra poblacional (12 000)

Z= Parámetro estadístico, nivel de confianza (1.96)

d= Error estándar máximo aceptado (0.05)

p= Proporción esperada (32 %)

q= (1-p) Probabilidad de que no ocurra el evento (68%)

Se utilizará una estadística kappa (Berry et al., 2002), para determinar el grado entre palpaciones realizadas al el momento de la matanza. Kappa también se usará para determinar el acuerdo entre las palpaciones de los implantes realizadas en la sala de cortes de la FMVZ-UAS con las palpaciones realizadas a la velocidad de la matanza. El coeficiente kappa puede tomar valores entre -1 y +1. Mientras más cercano a +1, mayor es el grado de concordancia inter-observador, por el contrario, mientras más cercano a -1, mayor es el grado de discordancia inter-observador. Un valor de $\kappa = 0$ refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar (Cerdeña y Villarroel, 2008). Para analizar las relaciones entre el rendimiento y defectos de implantes, se utilizó el procedimiento de Modelos Lineales Generales de SAS v. 9.0 (SAS Inst., Cary, NC); en todos los casos se fijará un valor de alfa = 0,05 para aceptar diferencia estadística.

Literatura citada

ONU. (2017), Naciones Unidas "Departamento de Asuntos Económicos y Sociales", Nueva York, Organización de las Naciones Unidas, recuperado de www.un.org/development/desa/es/news/population/world-population-prospects-2017.html enero de 2019.

Zobell, D. Chapman, K. Heaton, K. Birkelo, C. 2000. Beef Cattle implants. Electronic publishing G97-1324-A Extraído de https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1028&context=extension_histal

Ocampo, L y Garcés, P. (2010) Uso de implantes. Diplomado en línea de Producción de carne en corral de engorda. Modulo 4, Tema 5. <http://diplomados2-8.fmvz.unam.mx/>

Barajas, C. Cervantes, B. Romo, J. Juarez, F. Aguirre, J. 2010. Influencia de la falla del implante hormonal en la respuesta productiva de toretes en ceba. *Zootecnia Trop.* 28 (2): 193-200. Extraído de <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/544>

Páez, J. (2006). Evaluación de un implante anabólico con antibiótico en corrales de engorda de la zona centro del Estado de Veracruz. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Veracruzana, México.

Anderson, P. and Botts, R. 2002. Evaluation of the ability of implants containing a pellet of tylosin tartrate (component® with tylan®) to prevent implant site abscesses under field conditions. *The Profesional Animal Scientist* 18: 262-267. doi.org/10.15232/S1080-7446(15)31531-X

Fira (2017). Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial, Panorama Agroalimentario. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200639/Panorama_Agroalimentario_Carne_de_bovino_2017__1_.pdf

Preston, R. L., Bartle, S.J., Kasser, T. R., Day J. W., Veenhuizen, J.J., and Baile, C.A. 1995. Comparative Effectiveness of Somatotropin and Anabolic Steroids in Feedlot Steers. *J. Amin. Sci.* 73:1038-1047. Extraído de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7628946>

Gómez, L (2006). Ventajas y desventajas del uso de antibióticos en bovinos productores de carne (Revisión bibliográfica, 1983-2005). Morelia Michoacán. 02/2006. Extraído de <https://www.redalyc.org/pdf/724/72430206.pdf>

Dicke, B., Erickson, G.E., Klopfenstein, T. J., Botts, R.T., Anderson, P.T., Brandon, E.D., and Drouillard, J.S. 2004. Growth performance and carcass characteristics of finishing beef steers implanted with component TE-S or component TE-S with Tylan. *Other Animal Science Commons*. 0: 59-63. Extraído de <https://newprairiepress.org/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com/&httpsredir=1&article=1620&context=kaesrr>

OSTEOSINTESIS DE FRACTURA DIAFISARIA DE TIBIA EN PERROS, UTILIZANDO CLAVO CENTROMEDULAR CON AFEE. ROBERTO EDER VIDALES QUINTERO

OSTEOSYNTHESIS OF DIAPHERIC TIBIA FRACTURE IN DOGS, USING CENTROMEDULLARY NAIL WITH AFEE

M.V.Z. Roberto Eder Vidales Quintero¹, Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Mc. Jose Ascension Perez Corrales¹, Mc. Rodrigo Rocha Tirado¹, Dra. Nohemí Castro Del Campo¹, Dr. Miguel Angel Rodriguez Gaxiola¹.

Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias-FMVZ-UAS;
eder_revq@yahoo.com.mx

RESUMEN

El clavo centromedular Steinmann, es un biomaterial empleado en la fijación de fracturas en huesos largos, el cual se introduce a través de canal medular, estabilizando el hueso desde el interior confiriendo estabilidad mecánica, permitiendo una carga relativamente temprana. Es considerado como un elemento confiable utilizado en fracturas diáfisarias de tibia. Por otra parte el aparato de fijación esquelética (AFEE). Es otro elemento de osteosíntesis utilizado en la corrección de fracturas, este biomaterial tiene como funcionalidad de estabilizar las fracturas facilitando la rápida estabilización de fracturas óseas múlti fragmentadas.

El objetivo de la presente investigación será, comprobar que el clavo centromedular Steinmann con aparato de fijación esquelética (AFEE) sirve como elemento de osteosíntesis en la corrección de fractura diafisaria en tibia con el cual se pueden obtener mejores resultados debido a la recuperación temprana. Demostrando que es un elemento poco traumático y de rápida recuperación a diferencia de otros elementos de osteosíntesis comúnmente utilizados. Se utilizaran para su estudio 10 perros de ambos sexos, entre 5 meses y 7 años que presenten fractura diafisaria de tibia. Los casos serán evaluados radiológicamente post cirugía, observando la evolución de la osteosíntesis y regeneración ósea.

ABSTRACT

The Steinmann centromedullary nail is a biomaterial used in the fixation of fractures in long bones, which is introduced through the medullary canal, stabilizing the bone from the inside, conferring mechanical stability, allowing a relatively early load. It is considered a reliable element used in tibial diaphyseal fractures. On the other hand the skeletal fixation apparatus (AFEE). It is another element of osteosynthesis used in the correction of fractures, this biomaterial has the functionality of stabilizing fractures facilitating the rapid stabilization of bone fractures with multiple fragments.

The objective of the present investigation will be to verify that the Steinmann centromedullary nail with skeletal fixation device (AFEE) serves as an osteosynthesis

element in the correction of diaphyseal fracture in the tibia with which better results can be obtained due to early recovery. Proving that it is a little traumatic and fast recovery element unlike other commonly used osteosynthesis elements. 10 dogs of both sexes, between 5 months and 7 years of age with a diaphyseal fracture of the tibia, will be used for their study. The cases will be evaluated radiologically post surgery, observing the evolution of osteosynthesis and bone regeneration.

INTRODUCCIÓN

Osteosíntesis es el procedimiento quirúrgico que permite estabilizar fragmentos óseos mediante implantes metálicos en contacto directo con el hueso (fijación interna) respetando las reglas biológicas y biomecánicas (Ramirez y Ramirez, 2011). Su objetivo principal es promover la formación de callo externo, estimulándolo con recuperación precoz de la actividad muscular, del movimiento articular y transmisión de carga. La fractura se reduce, estabiliza e inmoviliza mediante maniobras externas al foco, sin alteración del flujo sanguíneo (García y Ortega, 2005).

A fines del siglo XIX, se encuentran los primeros reportes sobre fijación interna intramedular, este concepto tomó fuerza en manos de Gerald Küntscher en 1939 siendo el iniciador del enclavado intramedular, quién reparó con éxito fracturas experimentales en perros (Mele, 2007).

Las fracturas diafisarias de tibia son de las más frecuentes en la práctica ortopédica diaria (Ysea, 2010) sus complicaciones representan un número significativo de los casos en la clínica veterinaria en general; las causas más habituales se relacionan con traumatismos, principalmente de huesos largos, (Fossum y col, 2009). Los huesos largos se caracterizan por tener un eje alargado y extremidades agrandadas que soportan superficies articulares (Akers y Denbow, 2013), son típicos de los miembros torácicos y pélvicos, de forma cilíndrica, están claramente adaptados para trabajar como palancas (Dyce, Sack, y Wensing, 1996) su conformación anatómica es un factor importante a ser considerado para la aplicación de implantes intramedulares, y esto va muy de la mano con la especie sobre la cual se planeen colocar. (Perren y Hehli, 2004).

Existen múltiples tratamientos utilizados en el presente para las diferentes afecciones óseas, pero muchas veces éstos no tienen un resultado efectivo frecuentemente con las no uniones óseas (Fossum y col, 2009). Para el tratamiento quirúrgico de fracturas se han utilizado materiales de origen metálico (Piermattei et al., 2006) como ejemplo; La utilización placas metálicas para la fijación interna en corrección de fracturas por más de 100 años, estas han ido mejorando con el paso del tiempo eliminando deficiencias iniciales tales como la corrosión y la resistencia insuficiente. (Uhthoff y Backman, 2006) son fabricadas de acero inoxidable o de titanio (García y Ortega, 2005).

Por otra parte los aparatos de fijación externa o fijadores externos están indicados para la estabilización de fracturas, incluidas fracturas abiertas o conminutas (Moreira, 2001) constituye uno de los pilares fundamentales sobre el que se sustentan la cirugía ortopédica y la traumatológica (Del Gordo, 2008). Es considerada de elección en las lesiones del miembro que requieren de su empleo (Franch, 2007). Por último según Martí (1999) El clavo intramedular es uno de los sistemas usados por cirujanos ortopédicos en pequeñas especies, debido a que es un método confiable, accesible, que requiere poco

equipo, es poco sofisticado en cuanto a su aplicación y de bajo costo (Martí, 1999). Son utilizados en la fijación de fracturas de la zona media de la diáfisis de fémur, tibia y húmero. La mayoría se coloca con técnica cerrada y mínima exposición de tejidos blandos (García y Ortega, 2005). Consiste en un implante que se coloca en la cavidad medular de los huesos largos, lo cual los hace más resistentes al doblar, su fuerza está relacionada con su diámetro y con la habilidad para limitar el movimiento de los fragmentos del hueso fracturado, (Ils, y Brooker, 1985) también puede ser utilizado en combinación con otros métodos de fijación como es el aparatos de fijación esquelética externa (AFEE), los cuales actúan como métodos auxiliares proporcionando una mejor estabilidad del hueso fracturado. (Escarparte, 1995). Los métodos mencionados ofrecen gran utilidad pero que a su vez traen consigo algunos efectos no deseados, estos se pueden aflojar, romper, o doblar provocando malestar al paciente y dejando de cumplir con su labor (Piermattei et al., 2006).

Los tratamientos de osteosíntesis deben cumplir con condiciones esenciales como ser biocompatibles y asegurar una determinada vida media, a su vez, tienen que cumplir con las características específicas que requiera la aplicación a que vayan destinados (Vallet et al., 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante los últimos años se han desarrollado diversas técnicas quirúrgicas en la reducción de fracturas en las pequeñas especies, siendo los principales métodos; el clavo intramedular, placas de osteosíntesis, y el aparatos de fijación externa (AFEE), como otros pocos utilizados en la clínica veterinaria por su alto costo económico, complicaciones postoperatorias, grado de complicación quirúrgicas y rechazo a ellos, se encuentran los tomillos, cerclajes y clavos acerrojados. Estos métodos son poco utilizados ya que representan un alto costo para el propietario de la mascota y las complicaciones que derivan de ellos además su prolongada recuperación

En la clínica de pequeñas especies, un problema común que se presenta son las fracturas ocasionadas por diversas situaciones. Principalmente son provocadas por vehículos automotores y caídas. En el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Sinaloa, de 2015 a 2018 se han evaluado 165 fracturas de las cuales el 18.2%, fueron el resultado de fracturas en tibia. Una de las problemáticas se presenta cotidianamente en casos de perros fracturados, es que la mayoría de los propietarios no cuenta con la economía para tratar a sus mascotas, debido a que por el tipo de lesión en la diáfisis tibial, es común que se utilice como método de osteosíntesis la placa de titanio. Debido a esto hace que el realizar el procedimiento de corrección de fractura sea complicado para el propietario, por su alto costo.

Una de las alternativas para el tratamiento de fracturas diafisaria de tibia es la utilización de el clavo centromedular Steimann en combinación con el aparato de fijación esquelética externa, ya que este procedimiento quirúrgico sería una alternativa como tratamiento en dichas fracturas demostrando su eficacia, siendo un procedimiento practico, económico y de rápida recuperación. En lo cual acerca al propietario a tratar su mascota reduciendo su costo entre el 40 y 50 porciento, en contrariedad a la placa de titanio u otro método de osteosíntesis.

HIPÓTESIS.

Con la utilización de clavo centromedular con aparato de fijación esquelética externa como método de osteosíntesis en la corrección de fractura diafisaria de tibia, se puede obtener mejores resultados que con otras técnicas quirúrgicas de osteosíntesis. Debido a que hay una respuesta más rápida de consolidación ósea con respecto a otros procedimientos.

OBJETIVOS

General.

Describir el resultado y funcionalidad en la corrección de fracturas diafisaria de tibia utilizando como método de fijación el clavo centromedular Steinman con Aparato de Fijación Esquelética (AFEE) en el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Específico.

Identificar las características de la lesión en los pacientes atendidos

Identificar el tipo y clasificación de fractura

Cuantificar la incidencia de las fracturas diafisaria de tibia en los pacientes.

Determinar la evolución de las fracturas diafisarias de tibia tratadas con clavo centromedular Steinman y el aparato de fijación externa.

Determinar el tiempo de consolidación ósea.

Determinar el tiempo en que el canino realiza la carga en el miembro fracturado

Identificar casos de unión o no unión.

Identificar posibles patologías causadas por el biomaterial

Determinar la funcionalidad del clavo centromedular con AFEE. En la corrección de las fracturas diafisarias de tibia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizarán 10 perros de ambos sexos de diferentes edades y razas. Los cuales presenten fractura diafisaria de tibia. Se trabajará con pacientes del Hospital Veterinario de Pequeñas Especies. El cual pertenece a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Y otras clínicas particulares del municipio de Culiacán. Previo a la cirugía de corrección de fractura, se deberá llevar a cabo estudios radiográficos previos, para identificación y clasificación de fractura a tratarse. Para llevar a cabo el tratamiento de la misma, el paciente será preparado para

una intervención quirúrgica mayor, siguiendo estrictamente los pasos de la antisepsia, anestesia y manejo delicado de tejidos. Como pre anestésico se utilizara Dexmedetomidina, clorhidrato: 0.5 mg a dosis intramuscular de 500 microgramos/ metro cuadrado y como anestésico Tiletamina a dosis de 5 a 7 mg/kg p.v. por vía i.v. Para llevar a cabo el proceso de osteosíntesis se utilizara el clavo centromedular Steinman, la medida dependerá del paciente a tratar, utilizando la medidas de 1.5 mm. A 3.0 mm. Como analgésicos se recomendara Meloxicam a dosis de .1 mg/kg p.v durante 5 días y Erofloxacin a 5% a dosis de 10 mg/kg p.v durante 7 días posteriores a la cirugía.

Antes de introducir el clavo es necesario hacer ciertas maniobras para intentar colocar los fragmentos del hueso afectado en perfecta posición, es decir, bien alineados. Para introducir el clavo se utilizara un taladro manual de Jacop siendo la entrada por cresta tibial y ligeramente detrás del ligamento patelar evitando lastimar el mismo y en esta posición el clavo entra a la cavidad medular por delante de la articulación femoro-tibio-rotuliana, así mismo tener cuidado de no perforar la corteza lateral tibial debido a la angulación que produce la prominencia de la cresta tibial guiando el clavo Steinman hasta tocar la pared de la cavidad medular y posteriormente dirigirlo hasta la línea de fractura para finalmente asentarlo en la metafisis del fragmento distal. Por otra parte en la colocación del AFFE. Se utilizaran fragmentos de clavo Steinman, como transfijadores que atravesaran la corteza del hueso sin perforar o travesar la piel de lado contrario a la extremidad. Con una angulación de 45 a 60 grados con respecto al hueso, neutralizando las fuerzas a las que se someterá la línea de fractura.

Para determinar la corrección de la fractura, se realizaran estudios radiográficos de tibia a las 2, 4, 8 y 12 semanas posteriores a la corrección de fractura. El retiro del clavo Steinman y AFFE. Se realizará por medio de la valoración de los estudios mencionados, mediante la sedación del paciente utilizando Tiletamina como anestésico a dosis de 5 mg. p.v por vía intravenosa, iniciando con el corte y retiro del AFFE. Y terminando con la extracción del clavo centromedular Steimann.

LITERATURA CITADA

Akers, M. R., & Denbow, M. D. (2013). Bones and Skeletal System. In *Anatomy and Physiology of Domestic Animals*; 2da edición; Wiley-Blackwell; pp. 133-168: ISBN: 978-1-118-35638-8.

Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. (1996). The forelimb of the Carnivores. In W. B. Saunders (Ed.), *Text book of veterinary anatomy* (2th ed., pp. 455): <https://doi.org/10.1139/z99-082>

Escarparte Bulies, J. C. (1995). Fijación externa ósea: resultados y evaluación crítica de las complicaciones. *Revista Cubana de Ortopedia y Traumatología*, 9(1), 0-0; ISSN 1561-3100

Fossum, T. W. (2008). *Cirugía en pequeños animales*. Elsevier Health Sciences; pp. 957-982: ISBN 978-84-8086-366-7

Jesus Ramirez Reyes y Gabriel Ramirez Flores. (2011). Fijacion esqueletica externa. 22 de Diciembre de 2018, de congreso veterinario Norvet Sitio web: <http://www.norvet.com.mx/congreso2011/Clavo%2520Intramedular%2520Steimann.pdf>

- Franch Serracanta, J., Díaz-Bertrana Sánchez, M. C., & Durall Rivas, I. (2007). Fijador externo acrílico con tornillos percutáneos para el tratamiento de fracturas de huesos largos en perros miniatura. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 27(2), 0127-136; ISSN 1130-7064
- García, C., & Ortega, D. (2005). Elementos de osteosíntesis de uso habitual en fracturas del esqueleto apendicular: evaluación radiológica. *Revista chilena de radiología*, 11(2), 58-70: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-93082005000200005>
- Kronenberg, H. M. (2003). Developmental regulation of the growth plate. *Nature*, 423(6937), 332: doi 10.1038/nature01657
- Martí, J. M. (1999). Opciones quirúrgicas en fracturas femorales conminutas. *Clínica Veterinaria de pequeños animales*, 19(3), 0181-186. <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v19n3/11307064v19n3p181.pdf>
- Mele, E. (2007). Osteosíntesis con clavos acerrojados. *Acta scientiae veterinariae*. 35 (2), 294-295: ISSN 1678-0345; <http://www.ufrgs.br/actavet/35-suple-2/29%20-%20ANCLIVEPA.pdf>
- Moreira, V., Pons Mayea, G., Castillo García, I., Álvarez González, J., & González Pacheco, A. (2001). Experiencia de 20 años de trabajo con el empleo de la fijación externa. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 30(2), 81-86
- Piermattei, D. L., Flo, G. L., & DeCamp, C. E. (2006). *Manual de ortopedia y reparación de fracturas en pequeños animales* (4th ed.): Elsevier; pp 47-53: ISBN: 978-950-555-330-3
- Roberto Del Gordo, D., Suárez, F. C., González, A. H., & Bernal, R. R. (2008). Fracturas de tibia, tratamiento con CIMB no fresados. *Duazary: Revista Internacional de Ciencias de la Salud*, 5(1), 4-8: DOI: <http://dx.doi.org/10.21676/2389783X.552>
- Uhthoff, H. K., & Backman, D. S. (2006). Internal plate fixation of fractures: short history and recent developments. *Journal of orthopaedic science*, 11(2), 118-126: <https://doi.org/10.1007/s00776-005-0984-7>

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *Anaplasma* spp. EN VENADOS COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) EN CAUTIVERIO, EN SINALOA.

Ibáñez Garduño Lucio Ricardo 1; Gaxiola Camacho Soila Maribel¹, Enríquez Verdugo Idalia¹, Borbolla Ibarra Jaime Eleazar¹, Pérez Corrales José Ascención¹.

Maestría en Ciencias Agropecuarias.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAS.

Lucio_zoo@hotmail.com

RESUMEN

Los venados cola blanca son rumiantes silvestres considerados como reservorios naturales de la enfermedad de Anaplasmosis; la cual afecta a la ganadería intensiva como extensiva en el estado de Sinaloa, sobre el tema se centra a *Anaplasma marginale* como el agente causal de la Anaplasmosis en venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cautiverio en Sinaloa. El objetivo de este trabajo es caracterizar las especies de *Anaplasma* en venados cola blanca en cautiverio, especificando la identificación de *Anaplasma* spp por el gen 16s rRNA, así como a *Anaplasma marginale* por el gen 16S rRNA, utilizándose un diseño observacional, transversal, descriptivo por conveniencia; Se tomaron 3 muestras de sangre periférica de venados, previamente anestesiados con dardos a distancia, la sangre se trasladó a 4°C y se refrigeró para procesarla en el laboratorio de biología molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, dentro de los avances se tienen tres muestras positivas a microscopía óptica y 3 muestras de ADN integro, concluyendo que *Anaplasma* spp está presente en venados cola blanca en Sinaloa.

Palabras clave: Anaplasmosis; Rumiantes silvestre; Gen16S rRNA, Caracterizar; ADN integro; Reservorio.

ABSTRAC

The White tail deer are wild ruminants considered as natural reservoirs of the disease Anaplasmosis; this disease affects the intensive breeding in Sinaloa, the subject centers the *Anaplasma marginale* as the causal agent of the Anaplasmosis in white tail deer (*Odocoileus virginianus*) in Sinaloa's captivity. The objective of this work is to characterize the species of Anaplasmas in white tail deer that are on captivity specifying the identification of the *Anaplasma* spp from the 16s gen rRNA just like the *Anaplasma marginale* from the 16S gen rRNA, using an observational trasversal design, descriptive for its convenience; 3 samples of peripheral deer blood were taken, previously anesthetized with darts from distance, the blood was changed to 4°C or 39°F, and was refrigerated for being processed in the molecular biology laboratory of the faculty of veterinary medicine and zootechnics, within the advances, we have three positive samples to optical microscopy and 3 samples of integrated DNA, concluding that *Anaplasma* spp is present in white tail deer in Sinaloa.

Keywords: Anaplasmosis; Wild ruminants; Gen16S rRNA, Characterize; Full DNA; Reservoir.

INTRODUCCIÓN

El venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) es el ungulado con mayor área de distribución en el continente Americano. En México, se le encuentra en todo el territorio excepto la península de Baja California, algunas áreas del norte de Chihuahua y norte de Sonora. (Mandujano, Delfín-Alfonso y Gallina, 2010), es una especie de cérvido mediano, caracterizado por un cuello largo y grueso, patas largas, hocico alargado y orejas grandes. Generalmente de color café castaño brillante o un poco grisáceo y más grisáceo o pardo en el invierno; la porción inferior de la cola es de color blanco, cuando son juveniles presentan manchas blancas (moteados), los venados pierden las astas entre enero y marzo y las nuevas empiezan a crecer entre abril y mayo, (Álvarez-Romero y Medellín, 2005). Los venados cola blanca son considerados reservorios de la Anaplasmosis una enfermedad causante de pérdidas en la producción pecuaria y es transmitida por vectores (garrapatas, tábanos, entre otros) (Silva-Iturriza et al., 2013). De igual manera estos vectores transmiten patógenos protozoarios, rickettsiales y virales que impactan en la salud humana (Estrada-Peña y Jongejan, 1999; Parola et al., 2001). Las pérdidas en la actividad pecuaria asociadas a la Anaplasmosis, están comprendidas directamente por la muerte de animales, tratamientos farmacológicos o bien por el combate de sus principales vectores (Silva-Iturriza et al., 2013)., Brayton, (2012), menciona que las enfermedades infecciosas transmitidas por garrapatas a los animales son consideradas las más importantes a nivel mundial con costos económicos anuales estimados en \$ 7 mil millones, dentro de los E.U., se cree que la anaplasmosis es responsable de al menos 50-100,000 muertes de ganado por año, con pérdidas económicas que van desde 30 hasta 60 millones de dólares. La infección ocurre a través de la picadura de una garrapata portadora de la bacteria, las especies de Garrapatas *Rhipicephalus* spp., *Boophilus* spp., *Dermacentor* spp. y *Ixodes* spp son la fuente principal de transmisión, aunque otras fuentes de transmisión mecánica han sido reportados (Lbacha et al., 2017). La incubación dura de 7 a 60 días después de los cuales si la parasitemia de los glóbulos rojos excede el 15% del umbral, aparecen los signos clínicos, la severidad de los signos observados durante la fase clínica varían según la virulencia de la cepa y el estado inmune de los animales infectados (Lbacha et al., 2017). Los principales agentes etiológicos de este padecimiento son *Anaplasma ovis* (*A. ovis*) y *Anaplasma marginale* (*A. marginale*) cuyo cuadro clínico incluye: depresión, debilidad, disminución de la producción de leche, pérdida de peso, aborto y anemia severa en áreas endémicas (Yasini et al., 2012). Epidemiológicamente la enfermedad se transmite por una variedad de factores que incluyen la geografía y el clima, los cuales determinan la variedad de garrapatas o moscas mordedoras responsable de los casos locales de infección (Foil, 1989); *Anaplasma* es un microorganismo intracelular obligado, de tipo Gram negativo, se replica en las células sanguíneas de los mamíferos; donde diversos rumiantes silvestres son reconocidos como reservorios, sin embargo, en muchos casos, las bacterias del género *Anaplasma* spp afectan a los animales domésticos, incluso a personas (Rymaszewska et al., 2008). Diversos estudios dan cuenta de que tanto el ganado bovino como los venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) son responsables de mantener poblaciones importantes de garrapatas en los agostaderos y estos últimos están considerados como hospedadores (Gonzales-V et al., 2010). Tana-Hernández et al.

(2017), refieren uno de los métodos más utilizado para diagnosticar ésta bacteria hemotrónica es el examen directo en frotis de sangre, pero la sensibilidad y la especificidad es limitada en comparación con otros métodos como PCR. Lobanov et al., (2012). Mencionan que se ha diagnosticado *Anaplasma marginale* por PCR, amplificando el gen *msp5* en muestras sanguíneas de venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en Columbia, Canadá. Tomando en cuenta que ésta enfermedad está presente en la mayoría de los animales productivos y en los animales silvestres como el venado cola blanca y estos últimos considerados hospedadores, el presente trabajo tiene como objetivo general, caracterizar las especies de *Anaplasma* en venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cautiverio en Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades transmitidas por los ectoparásitos, son de gran importancia en la producción pecuaria, causando considerables pérdidas importantes para los pequeños y grandes productores, la ubicación de vectores causantes de la prevalencia de Anaplasmosis en el ganado bovino, equino y pequeños rumiantes es vital para el control de este padecimiento, existen organismos que fungen como hospedadores de esta bacteria como el venado cola blanca, el cual cohabita con las especies domesticas aunque actualmente no se cuenta con los suficientes estudios para comprobar la presencia de *Anaplasma* spp, en esta especie silvestre en Sinaloa; por lo cual es de gran pertinencia caracterizar esta bacteria que está afectando al venado cola blanca y al ganado.

HIPÓTESIS

Anaplasma marginale es el agente causal de la Anaplasmosis en venados cola blanca *Odocoileus virginianus* en cautiverio en Sinaloa.

OBJETIVOS

General:

Caracterizar las especies de *Anaplasma* en venados cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en cautiverio de Culiacán.

Específicos:

Identificar *Anaplasma* spp. por el gen 16S rRNA presente en sangre de venados cola blanca.

Identificar *Anaplasma marginale* por el gen 16S rRNA presente en sangre de venados cola blanca.

Caracterizar los genes de las especies de *Anaplasma* presentes en sangre de venado cola blanca.

TIPO DE ESTUDIO

El tipo de estudio será Observacional, transversal, descriptivo por conveniencia (Manterola y Otzen, 2014)

MATERIAL Y METODOS

El siguiente estudio se va a realizar en la ciudad de Culiacán Sinaloa, localizada entre los paralelos 24° 02' y 25° 17' de latitud norte; los meridianos 106° 52' y 107° 49' de longitud oeste; altitud entre 0 y 1800m con rango de temperatura de 18-26°C y rango de precipitación de 400-1100mm (INEGI, 2011). Se tomarán al menos 15 muestras de sangre de venados cola blanca de la especie (*O. virginianus*) de la región centro del estado de Sinaloa serán contenidos de manera química (Silva-Iturriza et al., 2013); con dardos de 3 ml, utilizando un protocolo para anestesia correspondiente a la mezcla de ketamina, xylacina y Zoletil 100, la dosis será inyectada a distancia mediante un equipo Telin jectl. Los organismos anestesiados serán monitoreados en sus constantes fisiológicas, registrándose en la bitácora de campo los datos de peso, sexo y estimación de edad. Acto seguido una muestra de sangre periférica será colectado directamente de la yugular utilizando jeringas de 5ml y tubos con EDTA. Una vez contenida la sangre en el tubo, ésta se agitará suavemente de manera manual, para ser trasladada al laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en condiciones de refrigeración. Posteriormente se realizará la exploración corporal de los animales en búsqueda de garrapatas y/o algún otro ectoparásito mismos que serán colocados en un tubo de ensayo con tapa para su traslado al laboratorio para su identificación. Ya concluido los procedimientos se le aplicará Tolazoline por vía endovenosa para revertir el efecto de la anestesia, las muestras serán tomadas preferentemente por la mañana y no mayor de las 2 pm (De la Cruz, 2017). Las muestras se prepararán para el examen microscópico de frotis sanguíneo teñidos por el colorante con Wright, útil para identificar la presencia de parásitos hemáticos como *Babesia* spp, *Haemobartonella* spp y *Anaplasma* spp, (Gaxiola-C et al., 2011).se continuara con el diagnostico por medio de las técnicas de biología molecular para la obtención de ADN a partir de muestra de sangre de venado Para lo cual se extraerá ADN mediante la técnica fenol-cloroformo. A 300 µl de sangre completa, se agregará amortiguador de lisis (TE: tris 100 mM y EDTA 10 mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubará a 37°C con calor seco y a 56°C con calor húmedo por 1 h respectivamente. Se agregará fenol (1:1), se centrifugará por 2 min a 12000 RPM, se obtendrá el sobrenadante y se añadirá cloroformo (1:1), se centrifugará por 2 min a 12000 RPM, se obtendrá un sobrenadante y se añadió etanol, se congelará por 20 min a -80°C. Se centrifugará por 20 min a 12000 RPM y se decantará. A la pastilla obtenida se le agregará 50 µl de agua inyectable estéril (Sambrook et al., 1989). El ADN obtenido se observará en un gel de agarosa al 1% teñido con Gel Red en lámpara de luz ultravioleta (Huang, 2010).

AVANCES DE RESULTADOS

Se colectaron tres muestra de sangre de tres ejemplares de venado cola blanca (*O. virginianus*), de dos entidades municipales de Sinaloa; dos de las muestras colectadas en el municipio de Culiacán Sinaloa que corresponden a una hembra (muestra #1) y un macho (muestra #2) y la tercera muestra corresponde a una hembra (muestra #3) la cual se colecto en el municipio de Cósala Sinaloa. A las cuales se les realizó un frotis con tinción de Wright dando resultados positivo a *Anaplasma* spp por medio de microscopia óptica, a las muestras se les extrajo ADN por medio de la técnica de fenol cloroformo,

obteniendo el ADN integro a partir de la sangre de venado, el cual se utilizará para la identificación genética de *Anaplasma* spp por el gen 16sRNA.

Se observó el gel de agarosa a través de luz ultravioleta donde se observan las bandas ADN integras a partir de sangre de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*).

DISCUSIÓN

Las tres muestras de sangre de venado cola blanca, resultaron positivas *A. marginale* por medio de la técnica de microscopia óptica en frotis teñidos con tinción de Wright, lo cual nos sugiere que este tipo de técnica de diagnóstico es efectiva para el diagnóstico de *Anaplasma* spp, como lo demuestra Silva-Iturriza et al., (2013) donde determinaron la infección activa por *Anaplasma* spp., *Trypanosoma* spp., y *Babesia* spp. Mediante frotis de capa fina teñidos con May-Grunwald/Giemsa.

CONCLUSION

La presencia de muestras positivas a *Anaplasma* spp, en sangre de venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) indican la presencia de esta bacteria hemotrópica en los venados cola blanca en Sinaloa, con ello pudieran ser un potencial transmisor de la enfermedad de Anaplasmosis en el ganado.

LITERATURA CITADA

A. Estrada-Peña, F. Jongejan, "Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission", *Exp. Appl. Acarol.* 23 (1999) 685–715.

Álvarez-Romero, J. y R. A. Medellín. 2005. *Odocoileus virginianus*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto U020. México. D.F.

Brayton K. A. 2012. "Tick Transmission of *Anaplasma marginale*". *Rev Mex Cienc Pecu.* 3:41-50

De La Cruz B.E. 2017. Uso de Succinilcolina para inmovilización química de Venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en Jalisco. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 18 (7):1-5.

De la Fuente J., García-García J.C., Blouin E.F., Saliki, J.T., Kocan, K.M., 2002. "Infection of tick cells and bovine erythrocytes with one genotype of the intracellular ehrlichia *Anaplasma marginale* excludes infection with other genotypes". *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 9, 658–668.

Foil L.D. 1989. "Tabanids as vectors of disease agents". *Parasitology Today* 5 (3):88-96

Gaxiola-C S.M., Castro-De C.N., Cota-G.S. Del C., Barraza-T. C. L., Solís-C. J. D., Enríquez-V .I., Gaxiola-M. J., Pérez-C. A., Borbolla-I. J.E., Quintero-O. I., Rubio-R. M C. 2011. "Prevalencia de parásitos hemáticos en caninos de Culiacán, Sinaloa, transmitidos por garrapatas". XIX congreso nacional de parasitología Mazatlán Sinaloa.

González-V, E.A.; Hewitt D.G.; Ortega-Santos J. A.; DeYoung R.W.; Campbell, T.; Bryant F.C. 2010. "Ganadería y Fauna Silvestre del Noreste de México y Sur de Texas e

Implicaciones de la Garrapata *Boophilus*: Opción de los Ganaderos" USDA National Wildlife Research Center - Staff Publications. 1255.

Huang Q., Baum L., Fu W.L. 2010. "Simple and Practical Staining of DNA with GelRed in Agarosa Gel Electrophoresis". Clin Lab 56: 149 – 152.

INEGI. 2011. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Gobierno de México. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Sinaloa. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/>.

Lbacha H. A., Zouagui Z., Alali S., Rhalem A., Petit E., Ducrotoy M. J., Boulouis H. J. & Maillard R. 2017. "Candidatus *Anaplasma cameli* in onehumped camels (*Camelus dromedarius*) in Morocco: a novel and emerging *Anaplasma* species?" Infectious Diseases of Poverty, 6.

Lobanov V.A., Gajadhar A.A., Adhami B., Schwantje H.M. 2012. "Molecular Study of Free-ranging Mule Deer and White-tailed Deer from British Columbia, Canada", for Evidence of *Anaplasma* spp. And *Ehrlichia* spp. Transboundary and Emerging Diseases 59:233-243.

Manterola C., Otzen T. 2014. Estudios Observacionales. Los Diseños Utilizados con Mayor Frecuencia en Investigación Clínica. Int. J. Morphol., 32(2):634-645,

Parola P., Raoult D. 2001. "Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe", Clin. Microbiol. Infect. 7 80–83.

Rymaszewska A., Grenda S. 2008. "Bacteria of the genus *Anaplasma* characteristics of *Anaplasma* and their vectors" review, Veterinarni Medicina, 53: 573–584.

Silva-Iturriza A., Panier E., Reyna-Bello A., Perrone T., Aso P. 2013. "EVALUACIÓN PARASITOLÓGICA Y SEROLÓGICA DE INFECCIONES HEMOTRÓPICAS EN VENADOS DE COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*) EN VENEZUELA" Revista Científica, FCV-LUZ II, N° 1, 37 – 41.

Tana-Hernández L., Navarrete-Arroyo K., Ron-Román J., Reyna-Bello A. Chávez-Larrea M. A. 2017. "PCR-diagnosis of *Anaplasma marginale* in cattle populations of Ecuador and its molecular identification through sequencing of ribosomal 16S fragments" BMC Veterinary Research BMC series open, inclusive and trusted Brayton K. A. 2012. "Tick Transmission of *Anaplasma marginale*". Rev Mex Cienc Pecu. 3:41-50

Yasini SP, Khaki Z., Rahbari S., Kazemi B., Salar-Amoli J., Gharabaghi A. 2012. "Hematologic and clinical aspects of experimental ovine anaplasmosis caused by *Anaplasma ovis* in Iran". Irán J Parasitol; 7: 91-8.

**INFLUENCIA DE FOSFORO Y BACILLUS SUBTILIS EN CRECIMIENTO,
PRODUCCION DE MATERIA SECA Y RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE FRIJOL**
Jesús Del Rosario Ruelas Islas¹, Álvaro Reyes Olivas¹, Fidel Núñez Ramirez², Jorge
Flores Velázquez³, Federico Villarreal Guerrero⁴

Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte.

¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte-UAS, chuyitaruelas@favf.mx, ² Instituto de Ciencias Agrícolas-UABC, ³ Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, ⁴Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales-UACH

RESUMEN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una leguminosa muy importante que constituye parte de la dieta en países como México. Cada año, el potencial de rendimiento es afectado fuertemente por factores relacionados al clima, así como como por prácticas de manejo del cultivo especialmente en el norte de Sinaloa. Por consiguiente, se condujo un experimento de campo en esta región con el propósito de investigar la respuesta del cultivo de frijol a diferentes dosis de fertilizante fosforado (0, 25, 50, 100 kg ha⁻¹) así como el rol de *Bacillus subtilis* cepa Q11 en crecimiento, producción de materia seca y potencial productivo. El diseño experimental consistió de parcelas divididas en bloques completos al azar con tres repeticiones. De acuerdo a los resultados obtenidos, las dosis de fertilizante fosforado influenciaron significativamente los parámetros de crecimiento y producción de materia seca en función del tiempo, así como también el rendimiento total. Adicionalmente, *B. subtilis* Q11 influenció significativamente la concentración y absorción de macro y micronutrientes en cada etapa fenológica. La preferencia en absorción total para todos los tratamientos fue en el siguiente orden: K> N> Ca> Mg> P mientras que para micronutrientes fue Fe>Mn>Zn>B>Cu con respecto a las plantas no inoculadas. La dosis de 50 kg ha⁻¹ fue la más eficiente en incrementar el máximo crecimiento, producción de materia seca y rendimiento. La inoculación de *B subtilis* Q11 mejoró la solubilización de macro y micronutrientes, la cual contribuirá a disminuir la fertilización sintética en los cultivos.

Palabras clave: Órganos reproductivos, etapas fenológicas, días después de la siembra, rendimiento potencial.

ABSTRACT

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is an important legume that constitutes part of the daily feeding in countries like Mexico. In Northern Sinaloa, bean yield remains low due to several factors that affect the yield potential; among the most prominent are the soil type, continuous presence of white mold, improper fertilization and irrigation management practices. Therefore, a field experiment was conducted in this area in order to investigate the response of common bean to different rates of phosphorus (P) fertilizer (0, 25, 50, 100 kg ha⁻¹) and the role of *Bacillus subtilis* strain Q11 on growth, dry matter production and yield potential. The experiment was conducted as a split plot in a randomized complete block design with three replicates. Based on the results obtained, P rates significantly

influenced parameters of growth as a function of time, growth components of shoot and roots, dry matter production and yield.

In addition, *B subtilis* Q11 significantly influenced concentration and uptake of macro and micronutrients in each stage of growth. The uptake preference for all treatments was in the following order: K> N> Ca> Mg> P whereas micronutrients uptake preference was of Fe>Mn>Zn>B>Cu over the control plants. Rate of 50 kg ha⁻¹ was the most efficient in enhancing the maximum growth, dry matter production and yield. Inoculation with *B subtilis* Q11 improved solubilization of macro and micronutrients, which will help to reduce synthetic fertilization in crops.

Keywords: reproductive organs, phenological stages, days after planting, yield potential.

INTRODUCCION

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una leguminosa muy importante para la nutrición a nivel mundial (Anderson, 2003), el cual requiere de un alto requerimiento de nitrógeno. Sin embargo, la baja disponibilidad de la nutrición fosfórica en suelos ha sido el factor limitante para el crecimiento vegetativo y radicular (Kanako *et al.*, 2004). Los fosfatos inorgánicos aplicados al suelo como fertilizantes son transformados rápidamente en formas no disponibles debido a su gran capacidad de adsorción a las arcillas y precipitación a compuestos de CaCO₃, HCO₃⁻ (Rengel, 2005) y es altamente probable que sea insuficiente para el crecimiento y desarrollo (Asadi *et al.*, 2005; Remans *et al.*, 2008). De manera natural, los suelos contienen una gran diversidad de microorganismos capaces de liberar formas inorgánicas para ser tomadas por las plantas. De acuerdo a Whitelaw (2000) los microorganismos solubilizadores de fósforo más potentes son las cepas de bacterias del género *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* y *Enterobacter* junto con las cepas de hongos *Penicillium* y *Aspergillus*. Existen algunas cepas comerciales de *Bacillus subtilis* que han probado ser buenos promotores de crecimiento y agentes de biocontrol (Yuan *et al.*, 2012) y otros han facilitado la solubilización de compuestos fosforados (Orhan *et al.*, 2006), como consecuencia es recomendable la manipulación de la rizósfera con la inoculación de rizobacterias que promueven el crecimiento vegetal y aquellas que favorecen la solubilización del fósforo para mejorar la nutrición fosforada de cultivos (Patel *et al.*, 2010, Wang *et al.*, 2011, García *et al.*, 2016). Aunque se ha comprobado que las bacterias del suelo son capaces de transformar el fósforo del suelo en formas mineralizadas previniendo la adsorción y/o fijación, todavía existe información ambigua acerca de las formas de dicho nutriente que son movilizadas y como su solubilización se relaciona con las propiedades del suelo afectando directamente la dinámica del mismo (Khan *et al.*, 2014). Debido a los problemas asociados al uso de químicos sintéticos en la agricultura (impactos en la salud y el ambiente), se ha incrementado el interés en el uso de microorganismos benéficos nativos y no nativos con el propósito de mejorar la productividad de cultivos y aumentar la fertilidad de suelos. Por tales motivos el objetivo de este estudio consistieron en investigar el efecto integrado de diferentes dosis de fertilización fosforada y *Bacillus subtilis* en crecimiento, rendimiento y absorción nutrimental bajo condiciones de campo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La disponibilidad de fósforo es una gran limitación en la producción de frijol, a medida que este nutrimento es menos disponible en la mayoría de los suelos especialmente en zonas y semiáridas, se hace imprescindible el estudio integral de microorganismos como las del género *Bacillus* que aunque ya están documentadas sus potencialidades en diferentes cultivos, no hay información relevante acerca del efecto del mismo en la absorción de fósforo y otros nutrientes por el cultivo de frijol y como este mecanismo puede influenciar características agronómicas y el potencial productivo del cultivo. Por lo que en este trabajo pretender resolver y aportar información acerca de las cantidades solubilizadas en términos de máxima acumulación de materia seca y nutrientes asociados al óptimo rendimiento, particularmente bajo condiciones de campo.

HIPOTESIS

La aplicación de fertilizante fosforado en combinación con *Bacillus subtilis* inoculado a la semilla, podría incrementar la absorción nutrimental del cultivo influenciando el crecimiento y maximizando el rendimiento.

OBJETIVO GENERAL

Investigar el efecto integrado del fósforo y la influencia de *Bacillus subtilis* en crecimiento, rendimiento y absorción nutrimental del cultivo de frijol.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Registrar la tasa de acumulación de materia seca y nutrientes durante todo el ciclo del cultivo.
2. Registrar las etapas de crecimiento en relación a máxima acumulación de materia seca y nutriente.
3. Registrar la distribución de asimilados en las partes de la planta (vegetativa y reproductiva) en diferentes etapas de desarrollo.
4. Determinar el efecto de la fertilización fosforada y su interacción con *Bacillus subtilis* en los parámetros de nutrición, crecimiento y desarrollo del cultivo.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se desarrolló durante el ciclo agrícola otoño-invierno (OI) 2016-2018 dentro de la unidad experimental de la empresa Química Internacional Aplicada S.A de C.V. El clima de la región es cálido y seco en el verano y moderadamente frío en invierno con temperatura media anual entre 24 a 26 °C. Los suelos de la región norte del estado son de textura franco arcillosa (50% arcilla, 30% limo y 20% arena bajos en materia orgánica (menos del 1%) y densidad aparente de 1.15 g cm⁻³, con capacidad de campo (CC) de 0.48 cm³ cm⁻³ y punto de marchitamiento permanente (PMP) de 0.33 cm³ cm⁻³. Las técnicas de siembra y labranza que se emplearon son las recomendadas de acuerdo a la guía técnica de INIFAP. Se realizó un muestreo de suelo en diferentes puntos de la superficie utilizando la técnica de cinco de oro, de la cual se obtuvo una muestra compuesta para determinar características físicas y químicas mediante los criterios establecidos en la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000). Los requerimientos de nitrógeno y fósforo fueron aplicados en pre-siembra usando Blaukorn® Classic (12-8-16). Para la programación del riego se utilizó la plataforma IRRIMODEL (Sifuentes, 2012) la cual estima la variación de la humedad del suelo en la zona radicular integrando parámetros de suelo, planta, clima y tiempo térmico de acuerdo a la

metodología propuesta por Ojeda *et al.* (2004). Se estableció un máximo déficit permisible del 50% de la humedad aprovechable y se midió constantemente la humedad del suelo usando TDR 300 @Spectrum. Los tratamientos consistieron en cuatro dosis de fertilización fosforada (T1 00 kg ha⁻¹, T2 25 kg ha⁻¹, T3 75 kg ha⁻¹ y T4 100 kg ha⁻¹) en el cultivo de frijol variedad Azufrado Higuera misma que fue inoculada con *Bacillus subtilis* Cepa Q11. El experimento consistió en un arreglo en parcelas divididas distribuidas completamente al azar con tres repeticiones. La parcela principal (PG) constó del factor dosis de fertilización fosfatada. En la sub-parcela se estableció la semilla inoculada con *Bacillus subtilis*. El área de la parcela principal fue de 64 m² (8 surcos a una separación de 0.8 m y 10 m de longitud) y el área de la sub-parcela fue de 32 m² (4 surcos).

Variables morfométricas

Se midieron variables de crecimiento al cultivo cada dos semanas durante todo el ciclo seleccionando tres plantas al azar. Dichas variables consistieron en altura de planta y cobertura foliar en función del tiempo. El índice de crecimiento fue estimado siguiendo la metodología propuesta por Atland (2003) y Torres *et al.* (2017). En llenado de vaina, se realizó un muestreo único destructivo tomando cinco plantas al azar para determinar el grosor de tallo, peso fresco y seco del tallo, longitud de raíz, así como peso seco y fresco de las mismas.

Producción de materia seca

Se realizaron cuatro muestreos durante el ciclo correspondientes a las siguientes etapas fenológicas: a) tercera hoja trifoliada, b) floración, c) llenado de vaina y d) madurez fisiológica. Posteriormente, se cortaron las plantas de un metro lineal con elación al suelo, se pusieron a secar a temperatura ambiente separando hojas, tallo y vainas (cuando estuvieron presentes) y finalmente pesar por separado.

Absorción nutrimental del cultivo

La cantidad de cada nutriente absorbido y distribuido dentro de los órganos de la planta fue estimado al multiplicar el peso seco por su concentración (kg ha⁻¹) mediante las siguientes formulas:

$$\text{Concentración nutrimental (g kg}^{-1} \text{ de MS)} = (\%) \text{ nutriente} * 10$$

$$\text{Absorción nutrimental (kg ha}^{-1} \text{ nutriente)} = (\%) \text{ de nutriente} * \text{MS (kg ha}^{-1}) / 100$$

$$\text{Tasa de abs nutrimental (kg ha}^{-1} \text{ día}^{-1}) = \text{Absorción nutrimental acumulada (kg ha}^{-1}) / (t_2 - t_1)$$

Rendimiento y sus componentes

Este parámetro se realizó en los dos surcos centrales tomando una superficie de 4 m². El rendimiento de grano se ajustó al 14% de humedad después de su medición con el medidor (Wile 55®).

Todos los parámetros de medición, así como los datos obtenidos de concentración total y absorción mineral fueron sujetos a análisis de varianza considerando cada etapa fenológica. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Fisher con diferencia mínima significativa (LSD $P \leq 0.05$). Se realizaron y evaluaron modelos de regresión individual para cada unidad experimental de todos los datos obtenidos sobre la base de un nivel de probabilidad ($\alpha = 0.05$) y valores de R² con el uso de procedimiento estadístico (Minitab, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSION

Índice de crecimiento

De acuerdo a los resultados obtenidos, se mostró que la dosis de 50 kg de P ha⁻¹ fue la más eficiente durante todo el ciclo (Tabla 1). La baja respuesta del cultivo a la dosis alta (100 kg de P ha⁻¹) podría ser posiblemente atribuido a una serie de factores tales como cambios en el pH del suelo después de la aplicación del fertilizante (Sánchez, 2007), o baja eficiencia de la planta en la absorción relacionada a toxicidad de NH₄⁺ afectando el crecimiento vegetativo (Havlin *et al.*, 2005). Por otra parte, se encontró que *Bacillus subtilis* no ejerció ningún efecto positivo en el crecimiento vegetativo probablemente porque la fijación de N₂ fue limitada observándose pobre nodulación radicular en las plantas. Además de que la solubilización de otros nutrientes también pudo estar limitada los cuales son responsables de incrementar el crecimiento tal como lo reportó Rodríguez y Fraga (1999). Estos resultados difieren a los reportados por Joe y Sivakumaar (2009) quienes encontraron que la inoculación con rizobacterias incrementaron positivamente el crecimiento del girasol y a los de Sarwar *et al.* (2016) quien reportó que los aislados de *Pseudomonas* junto con fertilizantes fosfatados respondieron positivamente mejor que los aislados de *Bacillus*.

Tabla 1. Influencia de las dosis de fósforo y *Bacillus subtilis* en índice de crecimiento en función del tiempo (dds).

Dosis de fósforo P ₂ O ₅	Días después de la siembra						
	15	30	45	60	75	90	105
0 kg ha ⁻¹	18.2 b	48.4 b	57.3	74.2 b	52.31c	41.39 c	33.48 c
25 kg ha ⁻¹	18.4 ab	47.0 b	56.8	74.0 b	55.8 b	41.76 c	32.15 c
50 kg ha ⁻¹	19.6 a	50.8 a	58.2	75.2 ab	60.5 a	50.83 b	41.02 b
100 kg ha ⁻¹	19.0 ab	51.2 a	60.8	77.6 a	57.5 b	55.55 a	45.56 a
(Pr>F)	0.08	<0.001	NS	0.09	<0.001	<0.001	<0.001
Microorganism							
o							
Bacillus s	19.0	49.6	58.5	74.7	56.6	47.6	38.2
control	18.6	49.1	58.1	75.8	56.4	47.0	37.8
(Pr>F)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
P x M							
(Pr>F)	NS	0.001	NS	NS	0.001	0.06	0.050

- Valores con diferentes letras son significativamente diferentes. Fisher DMS (P≤ 0.05), OSL (Pr>F).

Acumulación y partición de materia seca

Se encontró una respuesta significativa con respecto a las dosis de fosforo (P≤0.05) en la acumulación de materia seca (Tabla 2). Este resultado fue consistente con otros estudios que indican que el patrón de acumulación de materia seca incrementa de forma lineal a través del tiempo. Aunque la dosis de 100 kg de P ha⁻¹ tuvo un ligero incremento en área foliar e índice de crecimiento con respecto a la dosis de 50 kg de P ha⁻¹, esta no

contribuyó en dicha producción al final del ciclo. Al momento de cosecha, la acumulación máxima de materia seca fue de 14,776 kg ha⁻¹ para la dosis de 50 kg ha⁻¹ de P, misma que fue la más eficiente en términos de un adecuado suministro de P lo cual muestra una fuerte correlación de este parámetro con el rendimiento. En cuanto a la distribución de materia seca; se observó que las estructuras vegetativas (hojas y tallos) estuvieron consistentemente implicadas como los receptores principales en la producción de materia seca en etapas iniciales de crecimiento (100%) hasta el periodo de floración (Tabla 3). En llenado de vaina y madures fisiológica, aproximadamente la mitad de la materia seca total estuvo predominantemente alocada en el fruto, por lo que las vainas se convirtieron en los receptores más fuertes en dichos procesos. Estos resultados son diferentes a los reportados por Joe y Sivakumaar (2009), Sharma y Prasad (2003), Gupta *et al.* (2009) quienes encontraron que las bacterias promotoras de crecimiento vegetal junto con fertilizantes fosfatados han promovido la producción de materia seca.

Tabla 2. Acumulación de materia seca (kg ha⁻¹) durante etapas fenológicas del cultivo de frijol.

Dosis de fosforo	3ra hoja trifoliada	Formación de vaina	Llenado de vaina	Madurez fisiológica
0 kg ha ⁻¹	352.5	1406	6495 b	10989 b
25 kg ha ⁻¹	360.0	1648	7377 ab	12989 a
50 kg ha ⁻¹	413.1	1634	8130 a	14776a
100 kg ha ⁻¹	397.3	1779	8110 a	13657a
(Pr>F)	NS	NS	0.001	0.001
<i>Bacillus subtilis</i>	373.1	1692	7925 a	14220 a
control	388.3	1541.4	7131 b	11985 b
(Pr>F)	NS	NS	0.005	0.001

- Valores con diferentes letras son significativamente diferentes. Fisher DMS (P≤ 0.05), OSL (Pr>F)

Tabla 3. Partición de materia seca (% del total) entre componentes vegetativo (V) y reproductivo (R) en el cultivo de frijol en función de etapas fenológicas y dosis de fosforo.

Dosis de fosforo	3ra hoja trifoliada		Floración		Llenado de vaina		Madurez Fisiológica	
	V (%)	R (%)	V (%)	R (%)	V (%)	R (%)	V (%)	R (%)
0 kg ha ⁻¹	100	0	100	0	52.55	47.45 b	60.06 a	39.94 b
					a			
25 kg ha ⁻¹	100	0	100	0	46.82	53.16 a	59.51 ab	40.49 ab
					b			
50 kg ha ⁻¹	100	0	100	0	45.88	54.12 a	47.61 b	52.39 a

					b			
100 kg ha ⁻¹	100	0	100	0	49.89	50.11 a	57.22 ab	42.78 ab
					b			
Promedio	100	0	100	0	48.78	51.21	56.1	43.9

- Valores con diferentes letras son significativamente diferentes. Fisher DMS ($P \leq 0.05$)

Absorción nutrimental de macro y micronutrientes

La absorción total de macronutrientes fue significativa ($P \leq 0.05$) durante todo el ciclo en respuesta a la aplicación de dosis de fósforo y a la inoculación con *B. subtilis*. De manera general, se observó que el proceso de absorción incrementó gradualmente para todos los nutrientes siendo las dosis de 50 y 100 kg P las que exhibieron rangos de mayor absorción en comparación con la dosis de 25 y 0 kg P. Al final del ciclo, la absorción total fue $K > N > Ca > Mg > P$ (Tabla 4). El porcentaje de absorción en las dosis de P inoculadas con respecto al control aumentó 27, 13, 27, 24 y 34% para N, P, K, Ca y Mg respectivamente. Considerando dicha cantidad, se encontró que únicamente una parte fue absorbida antes de floración (Tabla 5). En llenado de vaina, el Mg fue el nutriente absorbido en mayor cantidad (55.4% del total) seguido de K, Ca, P y N con 53, 52.5, 52 y 42%; Mientras que, en madurez fisiológica, el mayor porcentaje de nutrientes absorbidos fue N y Ca (40 y 41%), Mg, P, y K con 37, 28 y 26% de la cantidad total acumulada aproximadamente. Por lo tanto, entre floración y formación de vaina, el suministro de nutrientes en la solución del suelo podría ser crítico para prevenir un evento de estrés nutrimental y lograr un óptimo rendimiento.

La absorción de micronutrientes exhibió una respuesta significativa a las dosis de fosforo durante todo el ciclo. Esta respuesta positiva estuvo fuertemente relacionada con el aumento en la materia seca total (datos no mostrados). La preferencia en absorción de micronutrientes fue el siguiente orden: $Fe > Mn > Zn > B > Cu$ con 16, 4.3, 2.8, 1.2 and 0.540 kg ha⁻¹, mismos que representaron el requerimiento promedio para todos los tratamientos. Adicionalmente el proceso de absorción fue mayor en las dosis inoculadas de 50 y 100 kg ha⁻¹ con respecto a las plantas no inoculadas (Tabla 6). La eficiencia de la inoculación con *Bacillus subtilis* representó un incremento de 29.5, 20, 40.5, 8.9 y 63.5% sobre el control para Fe, Mn, Cu, Zn and B respectivamente (Tabla 5). Finalmente, el porcentaje de nutriente absorbido en las diferentes etapas fenológicas permitirá ajustar la cantidad de fertilizante aplicado antes de la etapa de máxima demanda (Tabla 7).

Con respecto a los resultados generados de este estudio, se observó un incremento substancial desde floración alcanzando su demanda máxima en llenado de vaina, con un ligero decremento en etapa de madurez. De acuerdo a Brito et al. (2009), la mayor parte del N absorbido por este cultivo (80% aproximadamente) se deriva de la fijación simbiótica y que esta ocurre en etapa de pre-floración. Estos datos difieren con los reportes de Peres-Soratto et al. (2013) quienes encontraron que la absorción de P incrementó únicamente al final del ciclo, mientras la fase de absorción de K fue más prolongada que la reportada en trabajos anteriores argumentando no absorción después de los 50-55 dds. Adicionalmente, los mismos autores hacen mención que la preferencia en la absorción fue en el siguiente orden: $N > K > Ca > P > Mg > S$ muy similar a lo encontrado por Vieira et al.

(2009) basado en el promedio de cuatro cultivares. Además, que la época de mayor demanda para N-P-Ca y Mg ocurrió entre los 45 y 55 dds en dos cultivares y que dichos periodos fueron muy similares a lo citado por Rosolem (1987) quien exhibió que la tasa máxima de absorción nutrimental empieza en la época de mayor número de flores y termina al cesar el proceso de floración (55 dds).

Por otro lado, en suelos de zonas áridas y semiáridas tienen una baja disponibilidad de micronutrientes. De acuerdo a ello, este estudio mostró que la concentración y absorción de dichos nutrientes fue mayor en etapas finales (llenado de vaina y madurez fisiológica) mismo que concuerda con trabajos reportados por Vieira *et al.* (2009) quienes encontraron que la máxima acumulación de nutrientes ocurrió al final del ciclo del cultivo. Además, también concuerda con lo que reporta Pergoraro *et al.* (2014) quienes mencionan que las fases de mayor demanda y acumulación de nutrientes en frijol común se indican a través de la absorción por las hojas. Por otro lado, estos resultados también coinciden con los reportados por otros autores donde determinan que las plantas absorben fósforo en relación directa a la concentración de hierro. De manera similar, estudios en frijol soya reportaron un aumento del 40% en la concentración de nitrógeno y otros nutrientes debido a la aplicación de fósforo (Chaudhary *et al.*, 2008), rendimientos máximos de 3.5 Mg ha⁻¹ en diferentes variedades (Bender *et al.*, 2015) y absorción nutrimental en un amplio rango de rendimientos (3.6 a 5.4 Mg ha⁻¹) (Gaspar *et al.*, 2017).

Tabla 4. Absorción total de macronutrientes (kg ha⁻¹) en frijol común

Fósforo kg ha⁻¹	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio
0	180.98 b	13.92 b	193.53 c	101.24 b	43.95 c
25	280.1 a	18.99 a	267.4 b	139.2 b	64.2 bc
50	322.9 a	23.98 a	316.6 ab	228.8 a	76.44 ab
100	291.7 a	20.75 a	347.4 b	235 a	95.66 a
OSL	0.002	0.004	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Bs	306.4 a	21.60 a	319.2 a	202.2 a	82.03 a
control	231.5 b	17.23 b	243.1 b	150 b	58.06 b
(Pr>F)	<0.001	0.004	0.001	0.001	0.002
Promedio	269	19.2	284.2	221.7	70

Valores con diferentes letras son significativamente diferentes. Fisher LSD (P≤ 0.05), OSL (Pr>F).

Tabla 5. Periodos de máxima demanda de macronutrientes (% de la absorción total).

Etapas	N	P	K	Ca	Mg
Tercera hoja trifoliada	3.5	3.6	3	2.8	2.2
Floración	13.5	17	17.5	3.84	4.4

Llenado de vaina	42.4	52	53.3	52.5	55.4
Madurez fisiológica	40.5	28	26	41	37.7

Tabla 6. Absorción total de micronutrientes (kg ha⁻¹) en frijol común

Fósforo kg ha⁻¹	Fierro	Manganeso	Cobre	Zinc	Boro
0	8.91 b	2.76 b	0.358 b	1.20 b	0.81 b
25	16.82 a	4.45 a	0.519 ab	1.88 a	1.17 ab
50	19.73 a	5.32 a	0.659 a	2.24 a	1.52 a
100	18.32 a	4.94 a	0.647 a	2.28 a	1.45 a
(Pr>F)	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Bs	18.37 a	4.81	0.655 a	2.0	1.63 a
control	13.53 b	3.93	0.436 b	1.7	0.86 b
(Pr>F)	0.03	0.008	0.002	0.008	0.001
Promedio	15.9	4.37	0.545	1.85	1.24

Valores con diferentes letras son significativamente diferentes. Fisher LSD ($P \leq 0.05$), OSL ($Pr > F$).

Tabla 7. Periodos de máxima demanda de micronutrientes (% de la absorción total).

Etapa	Fe	Mn	Cu	Zn	B
Tercera hoja trifoliada	6	5.3	5.7	35	9.5
Floración	14	11	14.2	8.7	26
Llenado de vaina	27	45	55.5	33	44
Madurez fisiológica	53	38.7	24.4	22.2	20

Flujo nutrimental de macro y micronutrientes

Al final del ciclo, la tasa de absorción total de N en los tratamientos inoculados con *B. subtilis* fue de la siguiente manera: N: 4,94 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,90$), P: 0,57 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,99$), K: 7,57 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,99$), Ca: 7,19 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,70$), Mg: 1,94 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,60$) Para el control fue de N: 3,82 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,87$), P: 0,48 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,96$), K: 7,31 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,99$), Ca: 5.34 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,65$), Mg: 2,0 kg ha⁻¹ día⁻¹ ($R^2=0,59$). Con respecto al flujo de micronutrientes, se observó que el Fe aumentó ligeramente a los 45 dds con aproximadamente 84 g ha⁻¹ día⁻¹ y declinando posteriormente a los 75 dds (61 g ha⁻¹ día⁻¹). A medida que el cultivo se acercó a madurez (100 dds), la tasa de absorción se maximizó con 182 g ha⁻¹ día⁻¹ para todos los tratamientos. Para Mn se observó un incremento exponencial a los 25 dds (10 g ha⁻¹ día⁻¹) alcanzando su máxima tasa de absorción a los 75 dds (52 g ha⁻¹ día⁻¹) para después disminuir al final del ciclo (13 g ha⁻¹ día⁻¹). El Cu mostró un incremento remarcable durante todo el ciclo. La tasa de absorción de este nutriente fue en el siguiente orden: 1.2 g ha⁻¹ día⁻¹ (25 dds), 2.5 g ha⁻¹ día⁻¹ (45 dds), 7.3 g ha⁻¹ día⁻¹ (75 dds) and 5.6 g ha⁻¹ día⁻¹ (105 dds). El Zn también incrementó en función del tiempo. La máxima tasa registrada fue a los

75 dds con 23 g ha⁻¹ día⁻¹ disminuyendo dicha tasa. Finalmente, la tasa de absorción de boro fue muy variable durante todo el ciclo productivo, la máxima tasa fue a los 45 dds con 10 g ha⁻¹ día⁻¹, lo cual coincidió con una de las etapas más críticas de desarrollo.

Rendimiento y sus componentes

Los componentes de rendimiento fueron estadísticamente afectados por las dosis de fósforo (tabla 7). La aplicación de 50 kg ha⁻¹ mostro ser la concentración optima que incrementó significativamente el peso seco de vainas, peso seco de granos y el peso de 100 granos los cuales fueron responsables de maximizar el rendimiento. Este resultado es similar a lo reportado por Meseret y Amin (2014) quienes encontraron el máximo rendimiento con la dosis media comparada que la dosis alta. A diferencia de las dosis bajas (25 kg ha⁻¹ y 0 kg ha⁻¹) las cuales mostraron tener concentraciones limitadas para influenciar positivamente los parámetros del potencial productivo probablemente como resultado de una dilución de nutrientes en la planta por su propio crecimiento. Finalmente, el índice de cosecha y el porcentaje de desgrane no fueron estadísticamente afectados por las dosis de P. por otro lado, la inoculación con *Bacillus subtilis* no mostró ningún efecto en rendimiento asumiendo que los factores cruciales en determinar la efectividad de un inoculante generalmente han mostrado ser fuertemente dependientes del pH y su viabilidad después de la inoculación.

Tabla 7. Efecto de dosis de fósforo y *Bacillus subtilis* en rendimiento y sus componentes del cultivo de frijol.

Dosis de fósforo (P)	Peso seco vaina (g)	Desgrane (%)	Peso seco grano (g)	Peso seco (100 granos) (g)	Rendimiento (kg ha ⁻¹)	Índice de cosecha (%)
0 kg ha ⁻¹	220.3 b	77	161.6 c	37.67 c	2861.8 b	49
25 kg ha ⁻¹	231.2 b	74	168.0 bc	42.06 b	2786.2 b	58
50 kg ha ⁻¹	289.0 a	79	195.4 a	46.58 a	3232 a	58
100 kg ha ⁻¹	234.6 b	70	185.7 ab	43.02 ab	3087 ab	55

- Valores con diferentes letras son significativamente diferentes. Fisher DMS (P ≤ 0.05).

Conclusiones

Los resultados de la presente investigación revelan que la dosis de 50 y 100 kg ha⁻¹ incrementaron la concentración de nutrientes en los diferentes órganos de la planta. La dosis de 50 kg ha⁻¹ aumentó más eficientemente la absorción y concentración de macronutrientes incrementando el potencial productivo del cultivo. Por otro lado, la inoculación de semilla con *B. subtilis* Q11 indujo aproximadamente del 15 al 30% de la absorción nutrimental con respecto a los tratamientos no inoculados observándose que la demanda máxima ocurrió a los 75 dds independientemente de los tratamientos efectuados. Adicionalmente, los requerimientos nutrimentales en etapas ayudaran a prevenir un posible evento de estrés durante el desarrollo del cultivo.

La información generada únicamente proporciona las bases de manejo en la fertilización fosforada para la variedad que es ampliamente sembrada en la región del Norte de Sinaloa bajo condiciones de suelo y clima en el cual se estableció. Sin embargo, se necesitan estudios posteriores para relacionar diversas fuentes de fósforo en otros cultivares y el efecto individual de distintas cepas de *B. subtilis* como una estrategia para aumentar la fertilidad natural del suelo y lograr un manejo más eficiente de la fertilización en la producción de frijol.

LITERATURA CITADA

- Anderson P.K., Cunningham A.A., Patel N.G., Morales F.J., Epstein P.R., Daszak P. 2004. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agro technology drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, 19:535.
- Asadi R., Afshari H.M., Khavazi K., Nourgholipour F., Otadi A. 2005. Effects of common bean nodulating rhizobia native to Iranian soils on the yield and quality of bean. *Iran. J. Soil Water Sci.* 19: 215–225.
- Atland J.E., Gilliam C.H., Keever G. J., Edwards J. H., Sibley J. L., Fare D.C. 2003. Rapid determination of nitrogen status in pansy. *Hortscience*, 38(4):537-541.
- Bashan Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnol Adv.*, (16):729-770.
- Bender, R.R., Haegele, J. W., Below, F. E. 2015. Nutrient uptake, partitioning, and remobilization in modern soybean varieties. *Agron. J.* 107, 563-573.
- Brito MMP, Muraoka T, Silva EC (2009). Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*vigna unguiculata* (L.) walp.) e feijão-comum (*phaseolus vulgaris* L.) determinada como uso de ^{15}N . *R Bras Ci Solo*, 33: 895-905.
- Chaudhary, M. I., Adu-Gyamfi, J. J., Saneoka, H., Nguyen, N.T., Suwa, R., Kanai, S., El-Shemy, H. A., Lightfoot, D. A., Fujita, K. 2008. The effect of phosphorus deficiency on nutrient uptake, nitrogen fixation and photosynthetic rate in mashbean, mungbean and soybean. *Acta Physiol. Plant.* 30, 537–544.
- García A.M., Delgado A. 2016. Effect of *Bacillus subtilis* on phosphorous uptake by cucumber as affected by iron oxides and the solubility of phosphorous source. *Agricultural and Food science.* 25: 216-224.
- Gaspar, A. P., Laboski, C. A. M., Naeve, S. L. Conley, S. P. 2017. Dry matter and nitrogen uptake, partitioning, and removal across wide range of soybean seed yield levels. *Crop Sci.* 57, 2170-2182.
- Havlin J.L., Beaton J.D., Tisdale S.L., Nelson W.L. 2005. Soil fertility and fertilizers. An introduction to nutrient management. 7th ed. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Joe M.M., Sivakumar P.K. 2009. Long term survivability of *Azospirillum* co-aggregates: Bioinoculation effect on the growth and yield of sunflower. *Agricultura.* 6: 71–77.
- Kanako O., Motohiko K., Ho, A., Ken-ichi K. 2004. Phosphorus application affects root length distribution and water uptake of upland rice in a column experiment. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 50: 257–261.
- Khan H., Nadeem Z., Iqbal S., Akbar N., Iqbal A. 2013. Response of spring maize (*Zea mays* L.) to integrated nitrogen management. *Crop Environ.* 4(1): 6-10.

- Meseret T., Amin M. 2014. Effect of Different Phosphorus Fertilizer Rates on Growth, Dry Matter Yield and Yield Components of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). World Journal of Agricultural Research. 3: 88-92.
- Minitab, 2017. Statistical software. PA: Minitab, Inc.
- NOM-021-RECNAT-2000. Aprobada por el Comité Consultivo Nacional de Normalización para la Conservación, Protección, Restauración y Aprovechamiento de los Recursos Forestales de Suelos y Costas. Norma Oficial Mexicana. 227 pp.
- Ojeda W., Sifuentes E., Slack D., Carrillo M. 2004. Generalization of irrigation scheduling parameters using the growing degree day concept: application to a potato crop. Irrigation and drainage. 53:251-261.
- Orhan E., Esitken A., Ercisli S., Turan M., Sahin F. 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Scientia Horticulturae. 111: 38–43.
- Patel K.J., Singh A.K., Nareshkumar G., Archana G. 2010. Organic-acid-producing, phytate-mineralizing rhizobacteria and their effect on growth of pigeon pea (*Cajanus cajan*). Applied Soil Ecology, 44: 252–261.
- Pergoraro, R. F., 2014. Partição de biomassa e absorção de nutrientes pelo feijoeiro comum. Revista Caatinga. 27(3), 41-52.
- Peres-soratto R, Fernandes AM, Dos Santos LA, Gomes AL. 2013. Nutrient extraction and exportation by common bean cultivars under different fertilization levels: I-Macronutrients R Bras Ci Solo. 37: 1027-1042.
- Remans R., Croonenborghs A., Gutierrez R.T., Michiels M., Vanderleyden J. 2007. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on nodulation of *Phaseolus vulgaris* L. are dependent on plant P nutrition. Eur. J. Plant Pathol. 119: 341-351.
- Rengel Z., Marschner, P. 2005. Nutrient availability in the rizosphere: exploiting genotypic differences. New Phytologist. 168:305-312.
- Rodriguez H., Fraga R., Gonzalez T., Bashan Y. 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potential application for improving plant growth promoting bacteria. Plant Soil. 15-21.
- Rosolem CA. 1987. Nutrição e adubação do feijoeiro. Piracicaba Potafos. 93 pp.
- Sanchez C.A. 2007. Phosphorus. In: *Handbook of plant nutrition*. Taylor and Francis group, LLC. 58-82pp.
- Sainz-Rozas H., Echeverría H. E. 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo del cultivo de maíz y el rendimiento en grano. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 103: 37-44.
- Sarwar M.A., Tahir M., Tanveer A., Yaseen M. 2016. Evaluating role of plant growth promoting rhizobacteria for improving phosphorus use efficiency and productivity in sunflower (*Helianthus annuus*). Int. J. Agric. Biol. 18: 881–888.
- Sifuentes E., Macías J., Quintana J., González C.V. 2012. IrriModel 1.0: Programación integral y gestión del riego a través de internet. Folleto técnico: INIFAP-CIRNO-CEVAF: 52pp.
- Sharma S.N., Prasad R. 2003. Yield and P uptake by rice and wheat grown in a sequence as influenced by phosphate fertilization with diammonium phosphate and

- Mussoorie rock phosphate with or without crop residues and phosphate solubilizing bacteria. *J. Agric. Sci.* 141: 359–369.
- Torres A.I., Morales A., Grijalva R., Cervantes L., Nuñez F. 2017. Hierro foliar y acolchado plástico en *Capsicum chinense* Jacq. Infectado con tospovirus. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(2): 369-380.
- Vieira, N. M. B., Andrade, M. J. B., Carvalho, L. P., Rezende, P. M. 2009. Accumulation of macronutrients by different common bean cultivars grown in different plant densities in no-tillage crop system. *Ann. Rep. Bean. Improv. Coop.* 52, 132-133.
- Wang J.B., Chen Z.H., Chen L. J., Zhu A.N., Wu Z.J. 2011. Surface soil phosphorus and phosphatase activities affected by tillage and crop residue input amounts. *Plant Soil and Environment*, 57: 251–257.
- Whitelaw M. A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 69:99-151.
- Yuan J., Raza W., Huang Q., Shen Q. 2012. The ultrasound-assisted extraction and identification of antifungal substances from *B. Amyloliquefaciens* strain NJN-6 suppressing *Fusarium oxysporum*. *Journal of Basic Microbiology*, 52: 721–730.

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA CABRILLA PIEDRERA *Epinephelus labriformis* EN LA COSTA DE MAZATLÁN, SINALOA.

Josué Israel López Cardiel¹, Gustavo Alejandro Rodríguez Montes De Oca¹, Leonardo Ibarra Castro², Juan Manuel Martínez Brown², Rebeca Sánchez Cárdenas¹, Diana Judith López Peraza¹.

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

josuelcardiel@gmail.com

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental.

La familia Serranidae está compuesta por tres subfamilias: Serraninae, Anthiinae y Epinephelinae. La subfamilia Epinephelinae está compuesta por 32 géneros y 234 especies (Nelson *et al.* 2016), entre este amplio número de especies se encuentra *Epinephelus labriformis*. En general los serranidos son especies longevas caracterizadas como depredadores activos por encontrarse en los niveles superiores de la cadena alimentaria, siendo un componente ecológico importante en las comunidades arrecifales (Aburto *et al.* 2008). *E. labriformis* puede encontrarse a profundidades de 3 a 30 m localizada en las costas del Pacífico tropical, desde Baja California, México hasta Perú, incluyendo las islas costeras de Cocos, Revillagigedo y las Islas Galápagos (Fisher *et al.* 1985). La dieta para este grupo de peces consta de pulpos, calamares, sepias, camarones y cangrejos, sin embargo, cuando son juveniles, buscan arrecifes en aguas más someras o áreas protegidas como manglares, para encontrar refugio y alimento (Aburto *et al.*, 2008). Las cabrillas como *E. labriformis* son un recurso pesquero de importancia económica, sobre todo en pesca ribereña y pesca deportiva.

Por otro lado, la reproducción en peces está constituida por diversos factores naturales y sociales, porque al ser un proceso cíclico, está integrada básicamente de ritmicidades fisiológicas diarias y anuales que necesitan sincronizarse muy estrechamente con las variaciones periódicas del medio ambiente exterior (Saborido, 2009), como lo puede ser la temperatura y el fotoperiodo. Estas adaptación fisiológicas tienen relación con el medio donde habitan y por lo tanto tendrán influencia con el modelo reproductivo de la especie (Hovey *et al.* 1998).

De igual manera, se sabe que existen diferentes modelos reproductivos en los peces y se conoce que la mayoría de estos presentan gonocorismo (sexos separados). Sin embargo existe un porcentaje de peces teleósteos que presentan hermafroditismo simultáneo, secuencial y bidireccional. Siguiendo la secuencia anterior, se dice que una especie se considera hermafrodita, si una proporción de su población tiene la capacidad de funcionar con ambos sexos, de manera simultánea o secuencial (Sadovy y Shapiro, 1987). En el mismo sentido, los hermafroditas secuenciales se clasifican en dos términos de acuerdo a su función durante su periodo de vida, estos son: hermafroditas protándricos y protogínicos. Considerando la clasificación anterior, los hermafroditas protándricos presentan órganos femenino y masculino; sin embargo, solo tiene un órgano funcional y

presenta una característica particular, nacer como machos y en algún momento de su vida cambiar a hembras (Sadovy y Shapiro, 1987), y los hermafroditas protogínicos presentan la forma opuesta, comenzando su vida como hembras y en un cierto momento se convierten en machos. Debido a este comportamiento, se ha considerado a las especies del género *Epinephelus* en cuanto a su modelo reproductivo como hermafroditas protogínicos (Thonson y Munro, 1974).

La biología reproductiva es la encargada de estudiar todos estos aspectos importantes en el modelo reproductivo de una especie, dentro de los cuales se puede incluir también: los ciclos de vida, longevidad, relación sexual, mortalidad natural) y los parámetros reproductivos (fracción desovante (FD), actividad reproductiva (AR), índice gonadosomático (IGS), talla de primera madurez, desove, fecundidad), también realiza la validación de las escalas de madurez gonadal con el uso de técnicas histológicas. Este conocimiento sobre los aspectos reproductivos de cierta especie, nos permitirá administrar con bases técnicas y científicas, los recursos de una pesquería. Además, es la base para el desarrollo de la acuicultura, aportando información que ayudara al manejo de reproductores y a la inducción al desove en cautiverio. Por lo cual es importante, describir la biología reproductiva de *E. labriformis*, debido a que es una especie de la cual se conoce muy poco sobre estos aspectos. Por consecuencia, este conocimiento nos permitirá saber en qué época del año podremos obtener reproductores maduros del medio silvestre, y poder llevarlos a cautiverio para prepararlos para el desove, también sabremos la cantidad de desoves que tendrá y la duración de este evento. Lo cual nos ahorrará costos en el manejo de cualquier especie que presente potencial para la acuicultura.

Se han realizado diversos estudios sobre la biología reproductiva en peces, con el fin de conocer algunos aspectos de su ciclo reproductivo. Estos estudios se llevan a cabo para generar información veraz que sirva para el manejo, tanto de las pesquerías como de la acuicultura. A través del tiempo estos estudios, se han hecho específicos en ciertos temas como el hermafroditismo, que se presenta en diversos grupos de peces (Sadovy & Shapiro, 1987). La familia de los serranidos cuenta con varios estudios donde diversos autores han realizado investigación sobre sus estrategias reproductivas. Las especies de serranidos que se han estudiado son *Paralabrax nebulifer* por Hovey y Cooper (2000), que buscaron definir la estrategia reproductiva, utilizando los criterios propuestos por Sadovy y Shapiro (1987), que dice, que al presentar estas características indica la presencia de hermafroditismo protogínico: 1. Transición individual, 2. Cuerpos atrésicos en estadios 1, 2 o 3 de atresia oocítica con testículos, 3. Una membrana revestida de cavidad central en los testículos, 4. Presencia de esperma en la pared de la gónada y 5. Estructura poblacional. Por lo tanto, concluyeron que *Paralabrax nebulifer* es hermafrodita protogínico. De forma similar, en otro estudio realizado por Hovey *et al.* (2002) en la misma especie, encontrando resultados muy parecidos. Por otro lado, Estrada *et al.* (2011) realizaron un estudio sobre el ciclo reproductivo y desarrollo gonádico de *Mycteroperca rosácea* en la bahía de La Paz, México. Para realizar dicho estudio utilizaron, una clasificación que comprende cuatro periodos dentro del ciclo reproductivo: (1) maduración, (2) desove, (3) posdesove y (4) reposo. Además observaron que *M.*

rosácea presentó un desarrollo ovárico sincrónico por grupos, con una época reproductiva de mayo a junio, siendo los machos los primero en madurar debido a la presencia de esperma dos meses antes. Además, realizaron una correlación entre temperatura, fotoperiodo y desarrollo de las gónadas. Por otro lado, *M. rosácea* se clasifica como especie gonocórica. Sin embargo, encontraron un organismo en transición sexual clasificándolo como hermafrodita protogínico, la presencia de este fenómeno puede atribuirse a los factores sociales y naturales de su hábitat, que influyen en el comportamiento reproductivo de los Serranidos (Sadovy y Shapiro, 1987). Las investigaciones sobre la biología reproductiva de *E. labriformis*, la especie de interés de esta investigación, son escasas, sin embargo se han realizado estudios sobre aspectos biológicos de la especie. Morales-Flores, (2007) realizó un estudio sobre la biología de *E. labriformis* en la bahía de Mazatlán, Sin.: además, realizó un análisis macroscópico de las gónadas, en el cual utilizó una escala morfocromática para encontrar la época reproductiva. También, encontró que mayo y abril son los meses donde se presentó la mayor cantidad de hembras en estado de maduración y desove. Además fue la época con mayor cantidad de hembras en estado de madurez. Por lo cual, concluyó que *E. labriformis* presenta una época reproductiva correspondiente a los meses de Abril y mayo. Cabe mencionar que la época reproductiva se estableció de acuerdo al índice gonadosomático y las características morfológicas de la gónada como color, peso y tamaño. Por otro lado Hernández-Florez, (2015) realizó un estudio de biología reproductiva de *E. labriformis*, donde definió que la actividad reproductiva de esta especie, ocurre en dos periodos reproductivos, una de mayo a junio y otra de menor intensidad de octubre a noviembre. Ambas definidas por la presencia de las fases de desarrollo gonadal (desarrollo, avanzado, madurez, eyaculación y desove). Sin embargo el estudio constó de una clasificación morfocromática de las gónadas. También Núñez, (2016) efectuó un trabajo sobre la estructura poblacional de la cabrilla piedrera *E. labriformis* y evaluaron algunos aspectos de la biología reproductiva de la especie como talla de reversión sexual y la talla de primera madurez, mediante técnicas histológicas que le permitieron evaluar la reversión sexual, se logró identificar como testículos a las gónadas indefinidas sexualmente y sugirió mediante la evidencia que la talla de reversión sexual ocurre dentro del intervalo de 16.7 cm a 20.5 cm de Lt y estimo que la talla de primera madurez ocurre entre los 16 cm y 17 cm de Lt. También, Del Morales, (2007) describió algunos aspectos de la biología de *E. labriformis*, (época reproductiva y talla de primera madurez), con las capturas de los pescadores de la playa norte de la bahía de Mazatlán. Donde encontró que *E. labriformis* presenta un época reproductiva de abril a junio y una talla de primera madurez entre los 23.5 cm y 25 cm. Cabe señalar que la época reproductiva, se basó en la descripción macroscópica de la gónada y se aplicaron squash para la determinación del sexo y fases de desarrollo gonadal, tomando en cuenta el tamaño, color y textura de la gónada.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la falta de información sobre la biología reproductiva de *Epinephelus labriformis*, es necesario realizar un estudio utilizando técnicas histológicas para corroborar diferentes aspectos de la biología reproductiva de la especie, como talla de primera madurez,

estrategia reproductiva, el desarrollo gonadal, la época reproductiva, la talla de transición sexual. Además de evaluar comportamiento y capacidad de desove en cautiverio, para así poder ampliar el conocimiento sobre la biología reproductiva de la cabrilla piedrera. Por lo cual nos planteamos las siguientes preguntas de investigación: ¿Cuál es la época reproductiva de *E. labriformis*?, ¿Qué tipo de desarrollo ovárico presenta *E. labriformis*?, ¿Qué tipo de hermafroditismo presenta *E. labriformis*?, ¿Cuál es la talla primera madures y transición sexual de *E. labriformis*?, Cuál es la calidad de los huevos en cautiverio para *E. labriformis*? y ¿Cuál es el comportamiento reproductivos de *E. labriformis* en cautiverio?

HIPÓTESIS

La cabrilla piedrera *Epinephelus labriformis* presenta patrones de biología reproductiva igual a otros organismos de la familia taxonómica Epinephelinae, modificando tentativamente la proporción de sexos en poblaciones naturales debido a procesos extractivos no regulados.

Objetivo general.

Caracterizar la biología reproductiva de la Cabrilla piedrera *Epinephelus labriformis*.

Objetivos específicos.

- a) Evaluar el efecto de los parámetros ambientales (temperatura y fotoperiodo) con la época reproductiva de la Cabrilla piedrera *E. labriformis*.
- b) Describir el desarrollo gonadal de la Cabrilla piedrera *E. labriformis*
- c) Determinar las variaciones de los índices morfofisiológicos (índice gonadosomático, índice hepatosomático y factor de condición).
- d) Determinar la talla de primera madurez e inversión sexual en *E. labriformis*.
- e) Evaluar la capacidad reproductiva de *E. labriformis* en condiciones de cautiverio.

MÉTODO Y MATERIALES

De manera mensual durante un ciclo anual se realizarán capturas de los organismos mediante métodos de pesca artesanal donde se recolectarán 40 organismos por mes de *E. labriformis*, mismos que serán llevados al Laboratorio de reproducción y cultivo larvario de peces marinos en las instalaciones de CIAD-Mazatlán. En donde se realizarán biometrías de los organismos recolectados, la longitud se medirá con un ictiómetro (30 cm) y para el peso se utilizará una balanza digital marca OHAUS mod. SB200 (0.01 g – 200 g). Posteriormente serán disectados y la gónada será retirada para su posterior análisis histológico. Se extraerá la gónada de cada organismo para ser fijadas en solución Davidson y deshidratados en soluciones de etanol (70 al 100%) para su posterior análisis. Subsiguientemente serán lavadas y aclaradas en etanol y xileno y respectivamente las

gónadas se procesaran de acuerdo a la técnica de inclusión en parafina. De los bloques de parafina se obtendrán secciones de 5 µm de espesor, los cortes se montaran en portaobjetos y se observaran bajo un microscopio compuesto después de teñir con hematoxilina y eosina de Harris. Para determinar la época reproductiva de *E. labriformis*, se usara lo propuesto por (Estrada, 2012) para la clasificación del desarrollo las gónadas de machos y hembras para la especie *Mycteroperca rosácea*, (Maduración, Post desove, desove y receso). Usando esta clasificación se podrá obtener el número de organismos pertenecientes a cada estadio del desarrollo gonadal y con esto poder inferir en la época donde ocurre el evento de reproducción de *E. labriformis*. El IGS es una relación entre el peso de la gónada y el peso total del organismo multiplicado por 100. Un valor alto del IGS indicara que los organismo se encuentran en su etapa reproductiva, muy probablemente en un estadio de maduración o post desove, y un valor bajo nos dirá que el organismo no se encuentra en su época reproductiva o que esta un estadio de reposo. Para calcula el índice gonadosomático se utilizar la siguiente formula.

$$IGS = PG/PT * 100$$

El índice hepatosomatico es una relación entre el peso del hígado y el peso total de un organismo, multiplicado por 100. Para calcular el índice hepatosomatico se ejecutara la siguiente formula

$$IHS = PH/PT * 100$$

El factor de condición de Fulton, que es la relación entre la talla y el peso del individuo $FC = P/LT^3 * 100$. Este índice se calculara utilizando la siguiente formula.

$$FC = P/LT^3 * 100$$

La talla de primera madurez, se considera como la talla a la cual el 50% de la población está en condiciones óptimas de reclutarse al stock reproductivo de la especie. Se utiliza un modelo logístico donde se utiliza la siguiente formula.

$$P_i = 1 / (1 + e^{(a - b LT)})$$

Para evaluar la capacidad reproductiva de *E. labriformis* se utilizara la fecundidad total, la frecuencia de desove, el periodo de desove y la fertilización.

Bibliografía

Aburto O. O., Erisman B. V., Valdez O. G., Danemann D. E., Torreblanca R. J., Silva R. T. y Ortuño M. G. 2008. Serránidos de Importancia Comercial del Golfo de California: Ecología, Pesquerías y Conservación. Ciencia y Conservación, (1): 1-23p.

Del Moral F. L. 2007. Contribución al conocimiento de la biología de la cabrilla verde *Epinephelus labriformis* (Jenys, 1840), dentro de la pesca artesanal en la playa Norte de Mazatlán, Sinaloa. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 81p.

Estrada, G. J. A., Maldonado, G. M., García L. V. y Carrillo M. 2011. Ciclo reproductivo de la cabrilla arenera *Mycteroperca rosacea* en la bahía de La Paz, México. Revista Ciencias Marinas, 37(4): 425–441p.

Fisher, W., Krupp F., Schneider W., Sommer C., Carpenter K. E. y Niem V.H. 1985. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen III. Roma, España. 664p.

Hernández F. E. 2015. Aspectos biológicos de la cabrilla verde *Epinephelus labriformis* (Jenyns, 1840) capturadas por la pesquerías de playa Norte Mazatlán. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. 46p.

Hovey B. C., Allen G. L. y Hovey E. T. 2002. The Reproductive of Barred Sand Bass (*Paralabrax nebulifer*) from Southern California. CalCOFI Rep., Vol. 43, 174-178p.

Nelson, J. G., Grande T. C. y Wilson M. V. H. (2016). Fishes of the World. Editorial WILEY. Hoboken, Canada. 707p. ISBN 9781118342336

Saborido, F. 2009. Ecología de la reproducción de peces y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso de doctorado. Instituto de Investigaciones Marinas, Universidad de Vigo, España. 71p.

Sadovy Y., y Liu M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. Fish Fisher., 9: 1-43. DOI: 10.1111/j.1467-2979.2007.00266.x.

Sadovy Y., y Shapiro D. Y. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. Copeia. American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH) 1: 136-156. DOI: 10.2307/1446046.

Thomson, R., y Munro J. 1974. The biology, ecology and binomics of the hinds and groupe, serranidae Caribbean Coral Reet Fishery. Journal of Fish Biology 12(2):115 – 146. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1978.tb04158.x.

DETERMINACIÓN DE *Mycoplasma haemocanis* EN SANGRE Y EN GARRAPATAS INGURGITADAS DE CANINOS DE CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO

Noyra Cristina Corona Soto¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Nohemí Castro del Campo¹, Mario Cesar Rubio Robles¹, José Ascensión Pérez Corrales¹.

Maestría en Ciencias Agropecuarias
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia¹, Universidad Autónoma de Sinaloa.
mvznccs@gmail.com

RESUMEN

Los hemoplasmas son parásitos que se alojan en la superficie de los eritrocitos, pudiendo infectar solo o en co-infección con otros parásitos, afectando así el estado de salud del animal. Con el objetivo de determinar la presencia de *Mycoplasma haemocanis* (Mhc) en sangre y garrapatas ingurgitadas en caninos, se muestrearon a 59 perros obteniendo sangre total y de 52 perros se obtuvieron garrapatas. Del total de animales muestreados, 31 perros se encontraban clínicamente sanos, 14 mostraban signología y 14 sin datos registrados; de los frotis analizados, resulto lo siguiente: 4 muestras positivas, 9 muestras con cuerpos sugerentes a hemoplasmas (sin embargo las muestras contaban con artefactos que asemejan al parásito) y 39 muestras negativas. Las garrapatas fueron identificadas morfológicamente como *Rhipicephalus sanguineus*. Dando como evidencia la presencia en sangre de Mhc; dejando pendiente los resultados por PCR de sangre y garrapatas.

Palabras claves: *Mycoplasma haemocanis*, *Haemobartonella*, Micoplasmas hemotrópicos, perros, Hemoplasmas.

DETERMINATION OF *Mycoplasma haemocanis* IN CANINE BLOOD AND FED TICKS FROM CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO.

ABSTRACT

The haemoplasmas are erythrocytes housed parasites, which might infect the cells alone or co-infecting the cells with other parasites, thus affecting the health status of the animal. The aim of this study is to determine presence of *Mycoplasma haemocanis* (Mhc) in canine blood and fed ticks, 59 dogs were sample getting complete blood as well as 52 samples of fed ticks. From all sampled animals, 31 dogs were clinically healthy, 14 showed signs of sickness and the last 14 were received without data; blood smear analysis showed: 4 positive samples, 9 samples with structures morphologically compatible (however these samples were contaminated with sediment trash which looks like the parasites) and 39 negatives samples. The ticks were morphologically identified as *Rhipicephalus sanguineus*. Giving as evidence the presence of Mhc in blood; the results of PCR of blood and ticks is on hold.

Keywords: *Mycoplasma haemocanis*, *Haemobartonella*, Haemotropic Mycoplasma, dogs, Haemoplasmas.

INTRODUCCIÓN

Mycoplasma haemocanis es el agente etiológico de la micoplasmosis en los perros (Kemming *et al.*, 2004). La primera descripción de este parásito fue en eritrocitos de gatos anémicos, hecha por Flint y Moss en 1953 en Estados Unidos de Norteamérica; sin embargo, los casos ocasionales de micoplasmosis en perros fueron reconocidos en 1935 (Messick, 2003). Los micoplasmas hemotrópicos son bacterias pequeñas, pleomórficas y sin pared celular, detectadas en la sangre de varios mamíferos (Soto *et al.*, 2017). Dependen estrictamente de las células del hospedador, pueden llegar a infectar a varias especies de animales (Leite *et al.*, 2016). En perros se describen dos especies: *Mycoplasma haemocanis* (Mhc) y *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* (CMhp) (Soto *et al.*, 2017). Los signos clínicos incluyen anemias, fiebre, infertilidad, letargia, artritis, problemas respiratorios y disminución de peso (Leite *et al.*, 2016). Las infecciones por micoplasmas hemotrópicos usualmente son de tendencia crónica y oculta; no obstante, los reportes de anemia hemolítica de gravedad variable en animales, se asocian frecuentemente con otras enfermedades infecciosas o no infecciosas (Maggi *et al.*, 2013). Al respecto, se ha observado la expresión clínica de micoplasmosis en perros infectados con *Ehrlichia*, *Babesia*, y virus (Beaufils, 2012). Sin embargo, los signos clínicos varían desde las infecciones asintomáticas hasta la inducción de un síndrome hemolítico grave, especialmente en perros esplenectomizados o inmunocomprometidos (Sharifiyazdi *et al.*, 2016). Existen varios factores de riesgo relacionados con la micoplasmosis en perros, como es la edad, la raza (cruzas), origen, infección por sarna, sexo (machos) e infestación por vectores (Soto *et al.*, 2017). *Mhc* ha sido descrita en el mundo (Leite *et al.*, 2016). Tiene una ocurrencia entre el 1.2% y 44.7%, mostrado en varios estudios en diferentes países como Francia (15.4%) (Kenny *et al.*, 2004), Grecia (10.6%) (Tennant *et al.*, 2011), Italia (9.5%) y Portugal (40%) (Novacco *et al.*, 2010), España (14.9%) (Roura *et al.*, 2010), Hungría (1.2%) y Rumania (12.3%) (Hamel *et al.*, 2012), Nigeria (7.7%) (Aquino *et al.*, 2016), Brasil (6.9%) (Valle *et al.*, 2014) Brasil (44.7%) (Vieira *et al.*, 2015), Trinidad (8.7%) (Barker *et al.*, 2010), USA (1.3%) (Compton *et al.*, 2012), India (12.2%) (AbdRani *et al.*, 2011), Camboya (12.8%) (Inpankaew *et al.*, 2016), Tailandia (19.9%) (Liu *et al.*, 2016), Australia (1.3%) (Hii *et al.*, 2012), Tanzania (20%) e Irán (23%) (Torkan *et al.*, 2012), Sudan (42.3%) (Inokuma *et al.*, 2006), Gabón (44.7%) (Marié *et al.*, 2009), y tiene una tasa de coinfección del 0.5% - 2.6% (Soto *et al.*, 2017). En un estudio realizado en el estado de Morelos, México, se observó a *Mhc* en muestras analizadas en garrapatas y en sangre de perro (Lira-Amaya *et al.*, 2015). No se conoce con exactitud la transmisión natural al perro (Soto *et al.*, 2017). Sin embargo, se puede reproducir principalmente por artrópodos hematófagos, donde las garrapatas es el vector principal de *M. haemocanis* entre los perros (Messick, 2003). Beaufils (2012) señaló que se ha demostrado, de manera experimental, la transmisión de *M. haemocanis* por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*; así como también, la transmisión de manera transestadial y transovárica entre garrapatas de esta especie. Las garrapatas son los segundos vectores más importantes de transmisión de agentes patógenos causantes de enfermedades en los animales domésticos y son consideradas a nivel mundial, responsables de más de 100,000 casos de enfermedades en humanos en el mundo (De la Fuente *et al.*, 2008), son vectores de

un gran número de enfermedades bacterianas, virales, protozoarias y rickettsiales, afectando la salud tanto del hombre como de los animales, por ello su importancia en la salud pública y veterinaria, debido a su distribución mundial, y se ha informado que 58 especies pueden parasitar al perro y sólo siete especies lo tienen como su hospedador principal (Muñoz y Casanueva, 2001); estos mismos autores han informado, que en México están presentes 15 especies las cuales infestan al perro y al humano, indicando al perro como principal hospedador de la especie *Rhipicephalus sanguineus*. En Sinaloa se han realizado estudios sobre la *Rhipicephalus sanguineus*, en 2004 por Quintero *et al.* y dos por Gaxiola *et al.*; siendo el más actual el realizado por Rubio *et al.* (2015) mencionando que de las garrapatas analizadas se asociaron a las características de *Rhipicephalus sanguineus* en un 100%. Estudios realizados en China respaldan un mayor riesgo de infección por micoplasmas hemotrópicos entre los agricultores, veterinarios y otras personas con contacto frecuente y cercano a animales domésticos y artrópodos (Maggi *et al.*, 2013), sugirieron el potencial infeccioso de los micoplasmas hemotrópicos no ha sido definido claramente como causa de la enfermedad en humanos, pero al ser un patógeno zoonótico emergente puede plantear un problema de salud pública. El objetivo del estudio determinar la presencia de Mhc en sangre y garrapatas ingurgitadas de caninos de Culiacán, Sinaloa, México.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a los problemas de salud que presentan los perros al enfermarse y al ser infectados por Mhc y ser un patógeno zoonótico emergente, pueden plantear un problema de salud pública serio, por la cercana interacción de las personas con animales y artrópodos. *Mycoplasma haemocanis* en la clínica esta subdiagnosticada.

HIPÓTESIS

Mycoplasma haemocanis se encuentra presente en sangre y en garrapatas de los caninos de la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Mycoplasma haemocanis* en sangre y garrapatas ingurgitadas de caninos de Culiacán, Sinaloa, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Identificar morfológicamente *Mhc* en sangre de caninos.
- 2) Caracterizar genéticamente *Mhc* en garrapatas y sangre de caninos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó con muestras de sangre y de garrapatas ingurgitadas de perros del municipio de Culiacán del estado de Sinaloa, y se procesaron en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México, ubicada en Boulevard San Ángel S/N, Fraccionamiento San Benito, Predio Las Coloradas, Culiacán, Sinaloa, México: localizada entre los paralelos 24° 02' y 25° 17' de latitud norte; los meridianos 106° 52' y 107° 49' de longitud oeste; altitud entre 0 y 1800 m., con rango de

temperatura de 18-26°C y rango de precipitación de 400-1100 mm., con clima seco muy cálido y cálido (37.40%), semiseco muy cálido y cálido (31.96%), cálido subhúmedo con lluvias en verano de humedad media (29.11%), cálido subhúmedo con lluvias en verano de menor humedad (1.49%), y semicálido subhúmedo con lluvias en verano de menor humedad (0.04%), (INEGI, 2011).

Tipo de estudio: Observacional, transversal por conveniencia (Manterola y Otzen, 2014).

Criterios de Inclusión: se consideraron caninos de cualquier raza, sexo, edad, atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Culiacán del estado de Sinaloa, con presencia de garrapatas ingurgitadas y/o signología correspondiente a *Mhc*, así mismo se obtuvo información clínica y epidemiológica de los animales a muestrear.

Colecta de muestras

El muestreo se realizó durante el año 2018, entre los meses de junio y noviembre. Obteniendo 59 muestras sanguíneas y 52 muestras con garrapatas.

Toma de muestras

La sangre se obtuvo mediante punción de la vena cefálica de la extremidad anterior o de la vena safena de la extremidad posterior y/o de la yugular, se depositaron en tubos Vacutainer® con EDTA, previamente identificados, las cuales se conservaron a 4°C, hasta su procesamiento. Las garrapatas ingurgitadas se retiraron de los caninos mediante el procedimiento descrito por Needham (1985), y Gammons y Salam (2002), conservándolas a -20°C en tubos (Eppendorf de 1.5 mL) previamente identificados (Parola y Raoult, 2001).

Análisis de las muestras

Se realizaron dos extensiones sanguíneas de cada muestra, se tiñeron con tinción de Wright y hemocolorante rápido, posteriormente se observaron por técnica de microscopía óptica x100. Las garrapatas se identificaron morfológicamente con base en la guía de Walker *et al.*, 2003.

Extracción de ADN

Se extrajo el ADN de la sangre y garrapatas de los caninos muestreados, por medio de la técnica fenol-cloroformo, utilizando 300 µl de sangre completa de caninos y el contenido de la maceración de la garrapata, colocando cada muestra en tubos Eppendorf de 1.5 ml; a los cuales se les agregó amortiguador de lisis (TE: tris 100mM y EDTA 10mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubaron a 37°C con calor seco y a 56°C a calor húmedo por una hora respectivamente. Se agregó fenol (1:1), se centrifugaron por dos min a 12,000 RPM, se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1), se centrifugaron por dos min a 12,000 RPM se obtuvo el sobrenadante y se agregó 1 ml de etanol, se refrigeraron a -20°C durante 2 h (20 min a -80°C). Se centrifugaron por 20 min, a 12,000 RPM y se decantó el sobrenadante y se ventiló en la cámara de extracción. A la pastilla obtenida se le agregó 50 µl de agua inyectable estéril (Sambrook *et al.*, 2012), de esta solución se tomó 5 µl y se homogenizó con 2 µl de azul de Bromo fenol para detectar la presencia de ADN, en un gel de agarosa al 1% teñido con gel red revelado en cámara de electroforesis a 80 voltios, 250 miliamperes durante 30 minutos y se observó con luz ultravioleta (Huang, 2010).

Amplificación PCR

La amplificación del ADN obtenido se realizara por PCR en un termociclador (BIO-RAD Icyler), con una mezcla de reacción a un volumen de 25 µl que contenía la enzima Polimerasa Go Taq Green Master Mix, 2X (PROMEGA) 50 pM de cada oligonucleótido y aproximadamente 100 ng de ADN genómico. Se procederá a la detección de la especie *Mycoplasma haemocanis* mediante la amplificación de la porción variable del gen 16S rRNA (328pb) se utilizara un conjunto de oligonucleótidos, sentido (5'-GAAACTAAGGCCATAAATGACGC-3') y anti-sentido (5'-ACCTGTCACCTCGATAACCTCTAC-3') (Aktas y Ozubek, 2018); bajo las condiciones de ciclado a: 94°C durante 5 min, seguidos por 32 ciclos a 94°C durante 1 min, recocado a 60°C durante 1 min y extensión a 72°C durante 1 min, con un paso de extensión final a 72°C durante 5 min (Torkan *et al.*, 2012).

Visualización de ADN amplificado:

Los productos de amplificación de ADN serán validados por visualización de bandas de 328pb mediante electroforesis en un gel de agarosa al 2%, teñido con Gelred® (Biotium inc. Hayward, CA 94545 USA.), en cada corrida electroforética se incluirá 10 µL del producto de PCR de cada muestra, los correspondientes controles positivos y un marcador de tamaño de 50 pb. Los geles se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta (UV) a 340 nm, para evidenciar las bandas de ADN compatibles en tamaño con el fragmento de los genes en estudio.

Secuenciación

Las muestras positivas resultantes de la amplificación por PCR de los genes 16sRNA, serán secuenciadas mediante el sistema 3730XL Applied Biosystems®, en la empresa MacroGen inc., Seul, Korea <http://www.bionity.com/en/companies/16588/macrogen-inc.html>.

Análisis *In Silico*

El análisis *In silico* de las secuencias genéticas obtenidas se llevarán a cabo en los programas en línea BioEdit y OligoAnalyzer 3.1 <https://www.idtdna.com/calc/analyzer>. Las identidades de las secuencias se comprobaron en el programa en línea BLASTn https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch y el análisis filogenético se realizó en MEGA 6. El árbol filogenético se realizara por el método NJ (*Neighbor Joining*) descrito por Saitou y Nei (1987).

RESULTADOS

Identificación morfológica de *Mycoplasma haemocanis* en sangre de caninos.

Para la identificación de hemoplasmas se revisaron por medio de microscopia óptica 53 muestras (6 muestras no se realizaron frotis, por el tiempo que tuvieron de resguardo antes de su procesamiento). Los resultados mostraron: 4 muestras positivas (2.12%), 9 muestras con cuerpos sugerentes a hemoplasmas (4.77%) (Mostraban artefactos) y 39 muestras negativas (20.67%).

Identificación morfológica de garrapatas.

Con la guía de identificación morfológica (Walker *et al.*, 2003), se observaron por microscopio estereoscópico las estructuras de las garrapatas: gnatosoma, palpos,

festones, 1era coxa, surco anal, forma de la placa estigmatal y el escudo. Dando como resultado la similitud de las características con *Rhipichepalus sanguineus* en un 100%.

Caracterizar genéticamente *Mycoplasma haemocanis* en garrapatas y sangre de caninos.

Se ha realizado la extracción de ADN de 19 muestras sanguíneas. Quedan pendientes las muestras de sangre restantes y la de garrapatas, para poder llevar a cabo el PCR. El ADN extraído está sin degradar en buen estado.

DISCUSIÓN

La presencia de *Mycoplasma haemocanis* en sangre del 7.5% se asemeja a lo observado por Beaufils (2012) identificando en sangre. El diagnóstico por medio de extensiones sanguíneas, en lo que respecta a micoplasmas hemotrópicos pueden llegar a dar como resultado un falso positivo, los sedimentos del colorante por la tinción o fijación inapropiadas se pueden llegar a confundir con bacterias, así como también con los cuerpos de Howell-Julie (Mazaheri *et al.*, 2014); durante el almacenamiento el parásito se puede desprender del eritrocito (Villiers y Blackwood, 2005), solo si se usa EDTA en altas concentraciones (Mazaheri *et al.*, 2014), es por ello que se debe realizar el frotis inmediatamente después de la toma de muestra. La ausencia en el frotis no lo excluye del diagnóstico (Villiers y Blackwood, 2005).

LITERATURA CITADA

- Aquino L. C., Kamani J., Haruna A. M., Paludo G. R., Hicks C. A., Helps C. R., Tasker S. 2016. Analysis of risk factors and prevalence of haemoplasma infection in dogs. *Veterinary Parasitology* 221:111–117. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.03.014; PII: S0304-4017(16)30067-X
- Barker E.N., Tasker S., Day M.J., Warman S.M., Woolley K., Birtles R., Georges K.C., Ezeokoli C.D., Newaj-Fyzul A., Campbell M.D., Sparagano O.A.E., Cleaveland S., Helps C.R. 2010. Development and use of real-time PCR to detect and quantify *Mycoplasma haemocanis* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in dogs. *Veterinary Microbiology* 140:167–170. ISSN: 0378-1135
DOI: [10.1016/j.vetmic.2009.07.006](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.006)
- Beaufils J.-P. 2012. Anémie hémolytique chez un chien infecté par *Mycoplasma haemocanis*. *Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie* 47:43-47. DOI: 10.1016/j.anicom.2012.04.014
- Compton S.M., Maggi R.G., Breitschwerdt E.B. 2012. *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* and *Mycoplasma haemocanis* infections in dogs from the United States. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 35:557–562. DOI: 10.1016/j.cimid.2012.06.004
- De la Fuente J., Estrada-Peña A., Venzal J. M., Kocan K. M., Sonenshine D. E. 2008. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Frontiers in Bioscience* 13:6938-6946. DOI: [10.2741/3200](https://doi.org/10.2741/3200)

- Hamel D., Silaghi C., Lescai D., Pfister K. 2012. Epidemiological aspects on vector-borne infections in stray and pet dogs from Romania and Hungary with focus on *Babesia* spp. Parasitol Res. 110:1537–1545. DOI: 10.1007/s00436-011-2659-y
- Hii S.F., Kopp S.R., Thompson M.F., O'Leary C.A., Rees R.L., Traub R.J. 2012. Canine vector-borne disease pathogens in dogs from south-east Queensland and north-east Northern Territory. Australian Veterinary Journal 90:130–135. DOI: 10.1111/j.1751-0813.2012.00898.x
- Huang Q., Baum L., Fu W.L. 2010. Simple and Practical Staining of DNA with GelRed in Agarose Gel Electrophoresis. Clin Lab 56:149-152.
https://www.researchgate.net/publication/44605778_Simple_and_Practical_Staining_of_DNA_with_GelRed_in_Agarose_Gel_Electrophoresis
- INEGI. 2011. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática. Gobierno de México. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Sinaloa. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/>. (Consulta: septiembre, 2018)
- Inokuma H., Oyamada M., Davoust B., Boni M., Dereure J., Bucheton B., Hammad A., Watanabe M., Itamoto K., Okuda M., Brouqui P. 2006. Epidemiological survey of *Ehrlichia canis* and related species infection in dogs in Eastern Sudan. Annals of the New York Academy of Sciences 1078:461–463.
DOI: [10.1196/annals.1374.085](https://doi.org/10.1196/annals.1374.085)
- Kemming G. I., Messick J. B., Enders G., Boros M., Lorenz B., Muenzing S., Kisch-Wedel H., Mueller W., Hahmann-Mueller A., Messmer K., Thein E. 2004. *Mycoplasma haemocanis* Infection – A kennel disease?. American Association for Laboratory Animal Science 54 (4):404-409.
<https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/cm/2004/00000054/00000004/art00008%3bjsessionid=1im6bfuqxecfc.x-ic-live-03>
- Leite S. R., Teles E. J., Pazzuti G., Kellerman C. H. P., Babo-Terra V. J., Friozi E., do Nascimento R. C. A. 2016. "Occurrence of *Mycoplasma haemocanis* in dogs infested by ticks in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil". Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 25(3):359-363. ISSN: 0103-846X DOI: [10.1590/S1984-29612016043](https://doi.org/10.1590/S1984-29612016043)
- Lira-Amaya J. J., Álvarez-Martínez J. A., Rojas-Martínez C., Martínez F., Figueroa-Millán J. V., Bautista-Garfias C. R. 2015. Detección de parásitos hemotrópicos caninos en garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ingurgitadas. Entomología Veterinaria. Entomología Mexicana 2: 714-720. <https://docplayer.es/13278829-Deteccion-de-parasitos-hemotropicos-caninos-en-garrapatas-rhipicephalus-sanguineus-acari-ixodidae-ingurgitadas.html>
- Liu M., Ruttayaporn N., Saechan V., Jirapattharasate C., Vudriko P., Moumouni P.F.A., Cao S., Inpankaew T., Ybañez A.P., Suzuki H., Xuan X. 2016. Molecular survey of canine vector-borne diseases in stray dogs in Thailand. Parasitology International 65:357–361. DOI: 10.1016/j.parint.2016.04.011
- Maggi R. G., Compton S. M., Trull C. L., Mascarelli P. E., Mozayeni R., Breitschwerdt. 2013. Infection with hemotropic Mycoplasma species in patients with or without extensive arthropod or animal Contact. Journal of Clinical Microbiology 51(10):3237–3241. DOI: 10.1128/JCM.01125-13

- Manterola C., Otzen T., 2014. Estudios observacionales. Los diseños utilizados con mayor frecuencia en investigación clínica. *Int. J. Morphol.* 32 (2):634-345. ISSN: 0717-9502
DOI: [10.4067/S0717-95022014000200042](https://doi.org/10.4067/S0717-95022014000200042)
- Marié J.L., Shaw S.E., Langton D.A., Bourry O., Gomez J., Davoust B. 2009. Sub-clinical infection of dogs from the Ivory Coast and Gabon with *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Mycoplasma* and *Rickettsia* species. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 15:284–285. DOI: [10.1111/j.1469-0691.2008.02237.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02237.x)
- Mazaheri N. F. R., Vahedi S. M., Mohammadkhan 2014. Haemotropic mycoplasmas (haemoplasmas): a review. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research.* 2(5):1484-1503.
https://pdfs.semanticscholar.org/f6f5/8ac5d98b3b2a32d6ed171baf171347352218.pdf?_ga=2.210203671.365033637.1551158477-914273990.1551158477
- Messick J.B., 2003. New perspectives about *Hemotrophic mycoplasma* (formely, *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* species) infections in dogs and cats. *Vet Clin North Small Animal Practice* 33(6):1453-1465. DOI: [10.1016/S0195-5616\(03\)00122-0](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(03)00122-0)
- Needham Glenn R. 1985. Evaluation of five Popular Methods for Tick removal. *Pediatrics* 75(6):997-1002. ISSN: 1098-4275;
<https://pediatrics.aappublications.org/content/75/6/997.long>
- Novacco M., Meli M. L., Gentilini F., Ceci C., Grazia M., Lombardo G., Lloret A., Santos L., Carrapico T., Willi B., Wolf G., Lutz H., Hofmann-Lehmann R. 2010. Prevalence and geographical distribution of canine hemotropic mycoplasma infections in Mediterranean countries and analysis of risk factors for infection. *Veterinary Microbiology* 142:276–284. DOI: [10.1016/j.vetmic.2009.09.069](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.09.069)
- Roura X., Peters I. R., Altet L., Tabar M.-D., Barker E. N., Planellas M., Helps C. R., Francino O., Shaw S. E., Tasker S. 2010. Prevalence of hemotropic mycoplasmas in healthy and unhealthy cats and dogs in Spain, *J. Vet. Diagn. Invest.* 22:270–274. DOI: [10.1177/104063871002200219](https://doi.org/10.1177/104063871002200219)
- Rubio M. C., Gaxiola S. M., Enríquez I., Cota S. C., Castro del C. N., 2015. *Rhipicephalus sanguineus* en caninos en Sinaloa, México. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 16(3):1-10. ISSN: 1695-7504;
http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/_9_articulosrevistasdifusion/13709.pdf
- Soto F., Walker R., Sepulveda M., Bittencourt P., Acosta-Jamett G., Müller A. 2017. Occurrence of canine hemotropic Mycoplasmas in domestic dogs from urban and rural areas of the Valdivia Province, southern Chile. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 50:70–77.
DOI: [10.1016/j.cimid.2016.11.013](https://doi.org/10.1016/j.cimid.2016.11.013)
- Tennant, K., V., Barker E., N., Polizopoulou Z., Helps C., R., Tasker S. 2011. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of haemoplasmas in healthy and unhealthy dogs from Central Macedonia, Greece. *Journal of Small Animal Practice* 52:645–649. ISSN:1748-5827 DOI: [10.1111/j.1748-5827.2011.01126.x](https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01126.x)
- Valle S.D.F., Messick J. B., dos Santos A. P., Kreutz L. C., Blatt N. C., Machado G., Corbellini L. G., Biondo A., W., Diaz F.H. 2014. Identification, occurrence and clinical

- findings of canine hemoplasmas in southern Brazil. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 37:259-265. ISSN: 0147-9571; DOI: 10.1016/j.cimid.2014.08.001
- Vieira R.F., Vidotto O., Vieira T.S., Guimaraes A.M., Santos A.P., Nascimento N.C., Santos N.J.R., Martins T.F., Labruna M.B., Marcondes M., Biondo A.W., Messick J.B. 2015. Molecular investigation of hemotropic mycoplasmas in human beings, dogs and horses in a rural settlement in southern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 57(4):353–357. ISSN 1678-9946
DOI: [10.1590/S0036-46652015000400014](https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000400014)
 - Villiers E., Blackwood L. 2005. *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology*. Second edition. Editorial BSAVA, England. Cap. 27, pp: 429-430. ISBN 090521479X
 - Walker A. R., Bouattour A., Estrada-Peña A., Horak I. G., Latif A. A., Pegram R. G., Preston P. M. 2003. *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*. The University of Edinburgh. ISBN 0-9545173-0-X; <http://www.alanwalker.com/assets/PDF/tickguide-africa.pdf>
 - Quintero M.M.T., Gaxiola C.S.M., Castillo M.A., Juárez V.G. 2004. Algunas consideraciones sobre la presencia de garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* (Acari:Ixodidae) sobre perros; en el ámbito doméstico y su repercusión en salud. *Entomología Médica* 3:85-88. ISBN:968-839-411-1
 - Gaxiola C.S.M., Quintero M.M.T., Borbolla J.E., Gaxiola J, Rubio M.C., Pérez J.A. 2004. Infestation of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) ticks in dog's in Culiacán, Sinaloa, México. IX European Multi-colloquium of Parasitology, EMOP. European Federation of Parasitologists. Editores; Mas-Coma, BARGUES, Esteban and Valero. Valencia, Spain p. 462.
 - Gaxiola C.S.M., Quintero M.M.T., Borbolla I.J.E., Gaxiola M.J., Rubio R.M.C., Pérez C.J.A. 2004. Frecuencia de presentación de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) durante 2001-2003, en perros de Culiacán, Sinaloa, México.
 - Saitou N., Nei M. 1987. The neighbor – joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.* 4(4):406-425. ISSN 1537-1719; DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
 - Green R. M., Sambrook J. 2012. En: *Molecular cloning. Laboratory manual*. 4ta. Edition. Cold spring Harbor, New York. P 2028 p. ISBN 9781936113422
 - Muñoz L., Casanueva M. 2001. Estado actual del conocimiento de las garrapatas (acari: ixodida) asociadas a *Canis familiaris* L. *Gayana (Concepción)* 65(2):193-210. ISSN 0717-6538
DOI: [10.4067/S0717-65382001000200011](https://doi.org/10.4067/S0717-65382001000200011)
 - Parola P y Raoult D. 2001. Tick and Tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases* 32:897–928. ISSN 1058-4838; DOI: 10.1086/319347
 - Gammons M.M.D. and Salam G.M.D. 2002. Tick removal. *American Family Physician* 66 (4):643-645. <https://www.aafp.org/afp/2002/0815/p643.pdf>
 - Kenny J., Shaw E., Beugnet F., Tasker S. 2004. Demonstration of two distinct hemotropic mycoplasmas in french dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 42:5397-5399. DOI: [10.1128/JCM.42.11.5397-5399.2004](https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.5397-5399.2004)

- Torkan S., Aldavood S.J., Sekhavatmandi A., Moshkelani S. 2012. Detection of haemotropic *Mycoplasma* (*Haemobartonella*) using multiplex PCR and its relationship with epidemiological factors in dogs. *Comparative Clinical Pathology* 23:669-672. ISSN: 1618-565X; DOI: 10.1007/s00580-012-1668-2
- Sharifiyazdi H., Abbaszadeh M., Radmanesh M. 2016. Development of RFLP-PCR and simple multiplex PCR assays for detection and differentiation of two species of hemotropic Mycoplasmas in naturally infected dogs. *Comparative Clinical Pathology* 25(4):847-853. ISSN: 1618-565X
DOI: [10.1007/s00580-016-2272-7](https://doi.org/10.1007/s00580-016-2272-7)
- Inpankaew T., Hii S.F., Chimnoi W., Traub R.J. 2016. Canine vector-borne pathogens in semi-domesticated dogs residing in northern Cambodia. *Parasites & Vectors* 9:253.
DOI: [10.1186/s13071-016-1552-z](https://doi.org/10.1186/s13071-016-1552-z)
- Aktas y Ozubek, 2018. A molecular survey of hemoplasmas in domestic dogs from Turkey. *Veterinary Microbiology* 221:94-97. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.06.004
- AbdRani P.A.M., Irwin P.J., Coleman G.T., Gatne M., Traub R.J. 2011. A survey of canine tick-borne diseases in India. *Parasites & Vectors* 4:141. DOI: 10.1186/1756-3305-4-141 <http://www.parasitesandvectors.com/content/4/1/141>

CONSERVACIÓN A CORTO PLAZO DEL ESPERMA DE PECES DE LA FAMILIA LUTJANIDAE DE IMPORTANCIA ECONÓMICA PARA EL PAÍS.

Rodolfo Covantes Rosales¹, Marisela Aguilar-Juárez², Carmen G. Paniagua Chávez³, Antonio Estrada Godínez², Martín G. Frías Espericueta² y Emilio Peña Mesinas⁴

1.-UAS, Facultad de Ciencias del Mar, Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, rodocvro@gmail.com, 2.-UAS, 3.-CICESE, 4.-UAN

RESUMEN.

Los peces de la familia *Lutjanidae* son un importante ingreso en las pesquerías mexicanas, sin embargo, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza ubica algunos géneros de esta familia en categoría de “Preocupación menor” debido a su captura y su poco control. De esta manera, el objetivo del presente es determinar un protocolo que permita la conservación a corto plazo del esperma de algunas de las especies de la familia *Lutjanidae* que son relevantes para el país. De cada especie de pargo utilizada, se obtuvieron muestras de esperma, las cuales fueron evaluadas (calidad). Las muestras de esperma fueron suspendidas en la SE, la óptima fue diluida a diferentes tasas de dilución (SE:esperma) y mantenidas en un refrigerador a 4°C por 8 días, y cada día se evaluó su calidad (% motilidad). El efecto de las diferentes SE a las diferentes diluciones con respecto al tiempo de almacenamiento serán evaluadas mediante un Anova II y una prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$) en el programa estadístico de SAS. Los resultados sugieren que el esperma *L. novemfasciatus* suspendido en HBSS c/c (1:3), HBSSs/c (1:6) o Solución Fisiológica (1:3) a 300 mOsmol/kg se puede almacenar a 4°C con una motilidad $\geq 50\%$ por 4 días, por otra parte, el pargo amarillo *L. argentiventris* logra mantener una motilidad mayor al 50% durante las primeras 24hr. Con una tasa de dilución 1:50 en las mismas SE. En la conservación del esperma de *L. campechanus*, Riley et al., (2008) sugieren el uso de HBSS s/c, como con la sugerencia de Alawi et al., (1995) quienes recomiendan la SF en especies marinas.

INTRODUCCIÓN.

En aguas tropicales y subtropicales, la familia *Lutjanidae* (pargos) es uno de los principales recursos pesqueros, apreciados en el mercado por su excelente calidad y alto valor comercial (Pauly y Bimhlan 1996). Históricamente la familia *Lutjanidae* ha sido considerada como elemento importante de soporte de varias pesquerías en mares tropicales y subtropicales del mundo (Bennerot et al., 1987). La norma oficial “NMX-FF-005-CS-1982” y el Instituto Nacional de Pesca (2010) incluye a *Lutjanus analis*, *L. aratus*, *L. colorado*, *L. griseus*, *L. guttatus*, *L. jocu*, *L. novemfasciatus*, *Hoplopagrus guntheri*, *L. peru*, *L. argentiventris*, *L. jordani*, *L. inemis* y *L. viridis* entre las especies de peces de mayor importancia comercial en México. Las especies del género tienen gran potencial para ser utilizadas como especies de cultivo, comercializándose con buena demanda y alto precio en el mercado debido a la calidad de su carne. Por ejemplo, durante el año 2006 se capturó a escala mundial un total de 249 443 toneladas de organismos de la familia *Lutjanidae*, con valor estimado de 1449 millones de dólares (FAO 2008). Desafortunadamente a la fecha diferentes especies de esta familia ya presentan ya algún grado de riesgo (IUCN, 2016). Los eventos de reproducción en los peces teleósteos están regulados por diversos factores que desencadenan procesos internos en los organismos

que culminan con el desarrollo de los gametos, su consecuente expulsión y posterior fertilización (Liley y Stacey, 1983; Tucker, 1998). Estos eventos adecuados a un tiempo y espacio (condiciones adecuadas para la supervivencia de la progenie) específicos pueden sin embargo, ser afectados por factores exógenos como la calidad del agua (oxígeno disuelto, turbidez, pH, salinidad, amonio disuelto), la temperatura, el fotoperíodo y la disponibilidad de alimento; así como también por factores endógenos como los involucrados con el mantenimiento de la gónada, sincronización de desoves y reabsorción de huevos, entre otros (Munro *et al.*, 1990). Por lo anterior, el conocimiento sobre el proceso endocrino implicado en la reproducción ha sugerido a los acuicultores el desarrollo de nuevas biotecnologías para estimular la maduración de los organismos en cautiverio, así como para su conservación por tiempos prolongados. Entre las biotecnologías utilizadas para favorecer el proceso de reproducción se contempla la inducción ambiental (temperatura y luz “fotoperíodo) para estimular la maduración de las gónadas y el uso de hormonas para inducir o magnificar el proceso hormonal tanto en hembras como de machos. En el caso de la conservación de gametos, biotecnologías como la conservación de estos utilizando bajas (4°C) o ultra-bajas temperaturas (-196°C) ha permitido que los gametos (semen y oocitos) mantenidos bajo estas circunstancias estén disponibles cuando se les requiera, ya sea en días (conservación a corto plazo), o años (conservación a largo plazo “criopreservación”).

La conservación a corto plazo es un método sencillo y práctico que utiliza bajas temperaturas (4°C) para extender el tiempo de viabilidad del material genético sin alterar su habilidad de fertilización (Hatipođlu and Akçay, 2010). La utilidad de esta técnica en los espermatozoides de los pargos, podría contribuir a los procesos de reproducción de estos peces en condiciones de cautiverio. Además, un adecuado almacenamiento del esperma de estos peces incrementaría su uso potencial para estudios a largo plazo (criopreservación) encaminados a mejorar el estatus comercial, ecológico o de conservación. Es por tanto que este trabajo pretende optimizar un protocolo específico que permita la conservación a corto plazo (4°C) del esperma de las diferentes especies de pargo de importancia comercial para el país.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad la demanda de alimentos crece a un ritmo acelerado, y las especies acuáticas ha solventado gran parte de esta necesidad, sin embargo, a causa de esta sobreexplotación los stocks naturales se han visto seriamente afectados a pesar del mejoramiento de las técnicas de pesca y la implementación de la acuicultura. Aun así, la realidad es que gran parte de las principales pesquerías se encuentran deterioradas y el fenómeno solo empeorará con el tiempo, además aunado a esto el deterioro del hábitat y la contaminación de los océanos, se suman para crear un escenario alarmante, por lo que cada día se vuelve necesaria la conservación de material genético de las especies acuáticas que representen un potencial para la acuicultura nacional. Los pargos, ya considerados en el mercado por su excelente calidad desafortunadamente, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), considera que estas especies se encuentran dentro de alguna categoría en su listado, debido probablemente a un máximo aprovechamiento y sobrepesca del recurso, por lo que la conservación del

esperma del pargo colorado, podría contribuir con los programas de repoblamiento de peces, aumentando poblaciones de especies de la pesca comercial, contribuir a mejorar el estatus comercial, ecológico o de conservación de otras especies de pargo y podría asegurar la implementación de esta especie en la acuicultura mexicana. Además de apoyar con un acervo para futuros estudios de reproducción e información para establecer las bases para el desarrollo de proyectos de criopreservación de para la especie en cuestión.

HIPOTESIS.

De las soluciones extensoras complejas (HBSS con y sin calcio) que comúnmente son empleadas durante la conservación a corto plazo del esperma de organismos Marinos, una SE simple (NaCl) será la que contribuya a conservar a corto plazo (4°C) el esperma de los organismos de las diferentes especies de la familia Lutjanidae con una calidad $\geq 50\%$ durante 6 días.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar un protocolo que permita la conservación a corto plazo del esperma del pargo colorado (*Lutjanus colorado*), del pargo amarillo (*L. argentiventris*) y del pargo prieto (*L. novemfasciatus*).

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Evaluar el volumen del esperma producidos por los organismos sujetos al estudio.
2. Determinar la densidad del esperma de las tres especies.
3. Determinar una solución extensora óptima para inactivar el esperma de cada una de las especies evaluadas.
4. Generar un medio de activación para el esperma de cada una de las especies evaluadas
5. Evaluar la calidad del esperma de los organismos sujetos al estudio, mediante el porcentaje de motilidad, después de su almacenamiento a bajas temperaturas (4°C).
6. Evaluar la tasa de fertilización del esperma conservado bajo este procedimiento

MATERIALES Y METODOS.

Obtención de las muestras de esperma. El esperma fue obtenido de peces extraídos del medio natural, como de un ambiente controlado. Los organismos silvestres fueron capturados por pescadores del club de pesca Náutica y El Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. campus Mazatlán (CIAD) proporciono los organismos cultivados. Para la obtención de esperma, se utilizaron de 5-8 machos sexualmente maduros de cada una de las especies evaluadas. La obtención del semen fue realizada de manera manual o por la extracción de la gónada. La obtención de esperma manual fue acorde a la técnica descrita por Gwo et al. (1993). Brevemente, los peces fueron colocados en una tina de 30 litros con agua de mar, la cual contenía 20 μL de aceite de clavo (solución aceite de clavo:etanol 1:9) por litro Pattanasiri et al., (2008). Los peces permanecieron en esta solución durante 5-10 minutos hasta que perdían el eje de nado.

Una vez adormecidos, fueron retirados del agua de mar que contenía el aceite de clavo y fueron secados cuidadosamente en la región abdominal para darles una leve presión abdominal y obtener el esperma. Por lo general, la primera muestra fue desechada para evitar contaminación ya que contenía orina y heces fecales. Posteriormente la papila urogenital fue limpiada nuevamente y la región ventral fue presionada para permitir la expulsión del esperma limpio, el cual fue recolectado con jeringas de 1-5 ml. Una vez obtenida la muestra, las jeringas fueron selladas con papel parafilm, colocadas en una caja térmica de unicel que contenía hielo para mantener la temperatura adentro de la caja a 4°C, las muestras fueron transportadas al Laboratorio de Conservación de Germoplasma de Especies Acuáticas (CGEA), en la Facultad de Ciencias del Mar (UAS). En el caso de la obtención del esperma mediante la extracción de la gónada, esta fue obtenidas cuidadosamente para evitar su contaminación con sangre u otro fluido del organismo. Brevemente, el abdomen del pez fue limpiado y descamado, se realizó un corte transversal y se dejaron expuestos los órganos. La gónada fue separada del organismo sin ser dañada y se realizó un corte en el conducto seminal por el cual se realizó la extracción de esperma mediante jeringas (sin agujas), las cuales fueron selladas y transportadas al CGEA.

Evaluación de la calidad del esperma (% motilidad). Para evaluar la motilidad se tomó una alícuota de ~0.5 µL de esperma, se colocó en un portaobjetos y fue mezclada con 20-50 µL de agua de mar a 35 ppm a fin de activar los espermatozoides. Inmediatamente de agregar el agua de mar, las muestras fueron observadas en un microscopio de epifluorescencia (Nikon DS-Ri1, Eclipse Ni-U) a un aumento de 40X y la motilidad fue registrada como el porcentaje de esperma con movimiento vigoroso hacia delante. Las muestras que presentaron una motilidad $\geq 80\%$ fueron seleccionadas para los experimentos.

Determinación del volumen y número de espermatozoides de las muestras colectadas. Para determinar la concentración de espermatozoides en las muestras, se preparó una solución de lugol al 1%, de la cual se tomaron 10 µL y fueron mezclada con 4649 µL de agua destilada y 1 µL de esperma, la mezcla de estos 3 componentes fue agitada por 30 segundos. Posteriormente, una muestra de 10 µL fue colocada en un hematocitómetro para determinar la concentración de espermatozoides por mililitro utilizando la siguiente fórmula:

Número de células*10,000*FDA

FDA= (Factor de dilución).

Todos los conteos fueron realizados por triplicado. La dilución utilizada de esperma y la solución de lugol fue 1:100 (lugol:esperma). El volumen de espermatozoides fue determinado calculando la cantidad de esperma total (mL), obtenido de cada organismo.

Activación del esperma con diferentes soluciones activadoras. Para determinar la mejor solución activadora, se evaluaron tres porcentajes de agua de mar (100, 90, 80%). Se colocó 0.5 µL de esperma en un portaobjeto y se mezcló con 20-30 µL de una de las

tres soluciones activadoras (SA) y la motilidad (%) evaluada inmediatamente. El mismo procedimiento fue realizado por triplicado para cada SA.

Inactivación del esperma. Se prepararon seis diferentes soluciones extensoras para la inactivación del esperma, cada una de ellas presentan concentraciones desiguales de diferentes reactivos, la composición de cada una de ella está representada en la siguiente tabla 1.

Tabla 1.- Composición y concentración de las diferentes soluciones extensoras

Solución Extensora	Reactivos g/L										Referencia
	NaCl	KCl	CaCl ₂ •2H ₂ O	MgSO ₄ •7H ₂ O	Na ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	NaHCO ₃	C ₆ H ₁₂ O ₆	CaCl ₂	MgCl ₂	
HBSS	26.23	1.31	0.52	0.66	0.20	0.20	1.15	3.28			Whaley,
Diluyente-C	22.42	3.38			0.23		2.39		0.63	2.06	Sanches 201
HBSS C-F	26.52	1.31		0.66	0.20	0.20	1.16	3.33			Riley e 200
NAM	16.47	0.52					7.91	0.38	1.84	5.79	Peñera al., 20
Solución fisiológica	28.72						0.72				Muchlis al.,20
RINGER	7.5	0.2	0.2				0.2	5			Vuthipha et al.,2

Para determinar la mejor solución extensora al igual que su mejor osmoralidad, alícuotas (~5 µL) de esperma fueron suspendidas en 15 µL de cada una de las soluciones. Las soluciones extensoras fueron probadas a 9 diferentes osmolalidades (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700,800 y 900 mOsmol/kg). Una vez suspendido el esperma en las soluciones extensoras, estas se incubaron por 30 min antes de ser reactivadas con la mejor solución reactivadora encontrada para cada especie.

Conservación a corto plazo del esperma de las diferentes especies de pargo. Dos o tres asas de suspensión: Muestras de esperma (100 µL) fueron colocadas en tubos cónicos de 0.6-mL o 1.5 mL y se mezclaron con 300, 600, o 900µL de la SE para conseguir una tasa de dilución de 1:3, 1:6 o 1:9. El esperma suspendido en las diferentes diluciones fue mantenido por triplicado en un refrigerador (4°C) y la motilidad fue registrada diariamente hasta que la motilidad fue nula. Una muestra de esperma sin SE fue utilizada como control.

Análisis estadístico. El efecto de la osmolalidad de las SE en la motilidad del esperma de estos peces fue analizado con un análisis de varianza de una vía. Las diferentes tasas de dilución y su efecto en la calidad del esperma con respecto al tiempo de almacenamiento fueron calculados con un análisis de varianza de dos vías. Las diferencias específicas entre los grupos de tratamiento fueron identificadas por una prueba de Tuckey ($\alpha = 0.05$). Antes del análisis los porcentajes de motilidad fueron

transformados a la raíz cuadrada del arcoseno. El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico SAS para Windows® (SAS, Insititute, Cary, North Carolina, USA).

RESULTADOS

Todas las muestras de esperma fueron analizadas previamente de hacer el experimento, las muestras de esperma de cada una de las especies obtuvieron una motilidad mayor al 80 % por lo cual se optó continuar con el experimento. La inactivación del esperma de pargo prieto con las soluciones extensoras (HBSS C/C, HBSS S-C, NAM, DILUYENTE C Y SOLUCIÓN FISIOLÓGICA) fue optima, ya que el esperma al ser mezclado con las soluciones a sus diferentes osmoralidad permaneció inmóvil, lo cual nos indica que las soluciones no activan al esperma, las soluciones no presentan diferencia significativa entre ellas ($\alpha=0.05$). La prueba estadística de los datos generados por la prueba de activación nos indicó que la mejor osmoralidad para las soluciones fue la de 300 mOsmol/kg, ya que presenta diferencia significativa con las otras osmoralidades ($\alpha=0.05$). Las soluciones extensoras HBSS y NAM no presentan diferencias significativas, mientras que HBSS S-C, Diluyente C y Solución Fisiológica no presentan diferencia entre ellas, pero si entre HBSS y NAM. La solución HBSS presentando una activación del 90%. Por otra parte, la activación de HBSS S/C fue superior a la obtenida con la solución HBSS C/C. No obstante, la NAM fue igual a la anterior, ya que no se presentaban diferencia significativa, presentando una activación del 93%. Por otro lado, la solución extensora Diluyente C presentando una activación del 100%. Por último, la solución extensora “Solución Fisiológica” una activación del 100% igual que la solución HBSS S/C y Diluyente C.

Para el pargo amarillo se optó por usar 4 soluciones extensoras, las cuales fueron HBSS, HBSS S-C, Solución Fisiológica y NAM. A diferencia, de la combinación de esperma de pargo negro con las soluciones extensoras, al momento de combinar el esperma de pargo amarillo con las SE presento una activación en la osmoralidad de 400 y 500 mOsmol/kg, presentando una diferencia significativa entre las otras osmoralidad. La activación del esperma ya mezclado con las diferentes soluciones extensora presentó diferencia entre las diferentes osmoralidades, dividiendo las osmoralidades en 5 grupos, las osmoralidades de 300, 200, 100 y 400 están en el primer grupo, mientras que, solo la osmoralidad de 500 está en el segundo grupo, el tercer grupo solo esta expresado con la osmoralidad de 600, el grupo cuarto es solo la osmoralidad de 700 y finalmente el quinto grupo está conformado por 800, 900 y 1000 mOsmol/kg. Entre soluciones extensoras, las soluciones extensoras HBSS y HBSS S-C no presentan diferencias significativas, la Solución fisiológica no presenta diferencia significativa contra HBSS S-C, pero si presenta diferencia contra HBSS, por ultimó el diluyente c presenta diferencia significativa con el resto de las soluciones extensoras. La primera en ser analizada fue HBSS C/c, en la cual se observa una inactivación a las osmoralidades de 100,200,300,700,800 y 900 mOsmol/kg mientras que en las osmoralidades 400 y 500 mOsmol/kg una ligera activación de 3% y 4% respectivamente lo cual lo podemos apreciar en la figura 6. La acitvacion del esperma registra un 100% de motilidad en las osmoralidades 100 a la 500, posteriormente decaí hasta llegar a 0 % en la osmoralidad 900. Después se analizó la solución extensora HBSS S/c presentando una inactivación en las osmaralidades de

100,200,600,700,800 y 900 mOsmol/kg, sin embargo, en las osmoralidades de 300,400 y 500 mOsmol/kg se registra una activación siendo la osmoralidad de 500 la que registra una activación del 77%. La activación del esperma registra un 100 % solo en las osmoralidades 200, 300 y 500. La solución Fisiológica presenta una tendencia igual a las anteriores presentando una ligera activación en las osmoralidades 400,500 y 600 mOsmol/kg, presentando la mayor activación a los 500 de osmoralidad. La activación obtiene un 100 % de activación en las osmoralidades de 200 a 500 mOsmol/kg. Por último, se analizó el Diluyente C, esta solución es la única donde no presenta una activación a los 500 mOsmol/Kg, pero registro una activación en 200,300 y 400 mOsmol/kg. La activación del esperma promedio un 100% de activación en 100, 200 y 300 de osmoralidad.

Con respecto a la conservación para pargo prieto, se analizó cada solución a dos diferentes diluciones (1:6 y 1:3) a una osmoralidad de 300 mOsmol/kg por 7 días, ya que al día séptimo no presentó motilidad el esperma del pargo prieto.

Resultados para las soluciones extensoras utilizadas en pargo prieto. Las diferentes soluciones extensoras junto con el control fueron sometidas a una prueba de comparaciones de tukey, arrojando 5 grupos distintos, el control fue diferente significativamente con las soluciones extensoras, al igual que la solución NAM, la solución HBSS no presenta diferencia significativa con el diluyente c y la solución fisiológica, pero si con HBSS S-C, NAM y el control, por otra parte HBSS S-C presenta una similitud con la solución fisiológica y presenta una diferencia significativa con el resto de las soluciones como contra el control, el diluyente c presenta diferencia significativa con todas las soluciones extensora excepto con HBSS, la solución fisiológica tiene similitud con HBSS y HBSS S-C, presentando diferencia con el control, NAM y diluyente c.

La solución HBSS C/C en sus dos diluciones presenta una motilidad mayor al 50 % durante los primeros tres días de experimento, posteriormente tiene una caída al 4 día reflejando una motilidad menor al 10%, en cada experimento se montó un control el cual pierde su motilidad en las primeras 48 hr. Los resultados obtenidos para la solución HBSS S/C son más favorables con respecto a la HBSS C/C, ya que en esta solución se obtuvieron una motilidad mayor al 50% en los primeros 4 días en ambas diluciones, se nota una gran diferencia con respecto al control. El esperma perdió el total de su movilidad hasta el día 6. La solución extensora "NAM" presenta los resultados menos favorables del experimento ya que solo logro mantener una motilidad mayor del 50 % en sus primeras 24 h. Posteriormente a las 48 h de haber comenzado el experimento este decaí a una tasa de motilidad aproximada del 20% en ambas diluciones. Por otra parte, la solución extensora "solución Fisiológica" presenta uno de los mejores resultados del experimento, logrando mantener una motilidad mayor al 50% durante 4 días en su dilución 1:3, ya que en su dilución 1:6 solo logro mantener la motilidad mayor al 50 % durante 3 días. El Diluyente C como solución extensora mantuvo una motilidad mayor al 50% durante los primeros tres días superando así a la solución extensora NAM, pero manteniéndose debajo de las soluciones extensoras HBSS S/C y la solución fisiológica. En las dos diluciones se mantuvo un comportamiento similar.

Para el pargo amarillo el esperma fue obtenido mediante masaje abdominal, la conservación se realizó con una osmoralidad de 200 mOsmol/kg, y con dos diferentes diluciones 1:30 y 1:50 para cada solución extensora.

La prueba de comparaciones nos indica que existen diferencias significativas entre las soluciones, el control tiene diferencia significativa con todas las soluciones extensora a excepción de la Solución Fisiológica, HBSS presenta una similitud solo con HBSS S-C y Solución Fisiológica, HBSS S-C presenta diferencias significativas con el control y el Diluyente C, no obstante, la Solución Fisiológica presenta diferencia significativa solamente con el Diluyente C, el Diluyente C fue la única solución que presenta una diferencia significativa con todas las demás.

Para la solución extensora HBSS C/c en ambas diluciones registra una motilidad mayor al 50% en las primeras 24 h. ya que esta declino hasta 0% en el 4 día. La solución HBSS S/c presenta una motilidad mayor al 50% de igual manera que la HBSS C/c en las primeras 24 h. su motilidad llega a cero en el tercer día en ambas diluciones. De igual manera la solución fisiológica presenta una motilidad mayor al 50% en las primeras 24 h. donde su motilidad llega a 0 en el día dos cuando se tiene una dilución 1:30, y alcanzando el 0 en el día 3 en una dilución 1:50. Por último, se analizó el diluyente C, donde se registran los valores más bajos, en sus diluciones se registran valores menores al 10 % de motilidad en las primeras horas, alcanzando una motilidad de 0% en sus primeras 24 h.

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

Los resultados preliminares encontrados en este trabajo, demuestra que hay diferencia entre especies, ya que las mismas soluciones extensoras fueron utilizadas en ambas especies, pero siendo la especie *L. novemfasciatus*, la especie con más duración de motilidad con respecto al tiempo. En la conservación del esperma de *L. campechanus*, Riley et al., (2008) sugieren el uso de HBSS s/c, como con la sugerencia de Alawi et al., (1995) y Muchlisin et al (2005) quienes recomiendan la SF en especies marinas.

La conservación a corto plazo de pargos se realizó con *L. campechanus* y *L. Griseus* y se encontró que la motilidad del esperma se mantuvo refrigerada (4°C) por 12 días cuando éste fue mantenido en solución balanceada de Hank 200 mOsmol/kg (Holladay et al., 2002). En 2008, se conservó a corto plazo (4.8 °C) el esperma de *L. campechanus* y *L. griseus*, en solución balanceada de Hank a diferentes osmoralidades (200, 300 y 400 mOsmol/kg), con una tasa de dilución de 1:4 (esperma:SE) y se encontró que el mejor tratamiento para mantener el esperma viable por 10 días fue de 200 mOsmol/kg (Riley et al 2008). Las osmoralidad utilizada en la conservación a corto plazo del pargo amarilla es igual a la usada por Holladay et al, (2002), sin embargo, el esperma solo se logró mantener por 48hr., el esperma del pargo prieto fu suspendido en una osmoralidad de 300 mOsmol/kg, obteniendo por 5 días, siendo esto menor a lo mencionado por Riley et al., (2008).

Sanches y Cerqueira (2010), conservaron a corto plazo el esperma de *Lutjanus synagris*, utilizando tres soluciones extensoras las cuales denominaron A, B y C, a una temperatura

de 4°C, las osmoralidades de las soluciones oscilaban entre los 150 a 180 mOsmol/kg, siendo la solución extensora “A”, la cual está constituida por NaCl, 7,89; KCl, 1,19; CaCl₂,0,2; MgCl₂, 0,426 g/l, la mejor para la conservación de esta especie. Los mismos autores en 2011, utilizaron tres soluciones fueron denominadas A (NaCl, 7,89; KCl, 1,19; CaCl₂, 0,2; MgCl₂, 0,4266 g/l), B (NaCl, 6,5; KCl, 3,0; CaCl₂, 0,3; NaHCO₃, 0,2 g/l) y C (NaCl, 7,89; KCl, 1,19; CaCl₂, 0,22; MgCl₂, 0,72531; NaH₂PO₄, 0,0805; NaHCO₃, 0,84;), con una relación de dilución de 1:3 (esperma:SE), a una temperatura de 4°C, las soluciones “A” y “B” son las que presentan una mejor capacidad de almacenar el esperma, sin embargo, esto solo fue logrado por unas horas (Sanches y Cerqueira 2011), No obstante, Sanches et al., (2015) conservaron el esperma de *L. synagris*, encontrando que la SE que contenía NaCl, 7.89; KCl, 1.19; CaCl₂, 0.22; MgCl₂, 0.72531; NaH₂PO₄, 0.0805; NaHCO₃, 0.84 g/l fue la que permitió mayor motilidad del esperma con respecto al tiempo de almacenamiento. Las soluciones extensoras utilizadas en el presente estudio cuentan con iones similares a algunas soluciones extensoras mencionadas anteriormente, pero obteniendo mejores resultados que los reportados por los anteriores autores.

En conclusión, para la conservación de pargo prieto y pargo amarillo es recomendado utilizar HBSS, ya que sus resultados fueron de los mejores en este estudio. Pero no se debe descartar utilizar una SF, ya que es más sencilla preparar y presenta resultados similares al HBSS.

LITERATURA CITADA

- Bannerot, S.P, Fox W.W. y Powers J.E. 1987. Reproductive strategies and the management of snappers and grouper in the Gulf of Mexico and Caribbean, p. 561-603
- FAO (2008) fao Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit. fishstat Plus: Universal software for fishery statistical time series. Version 2.3. 2000. Datasets: Aquaculture production 1950-2006 y Capture production 1950-2006. fao, Rome.
- Gwo, J., H. Kurokura y R. Hirano, 1993. Cryopreservation of spermatozoa from rainbow trout, common carp, and marine puffer. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59:777-782.
- Hatipođlu, E. Akçay Fertilizing ability of short-term preserved spermatozoa abant trout (*Salmo trutta abanticus* T, 1954) *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi si Dergisi*, 57 (2010), pp. 33–38
- IUCN. 2016. IUCN Red List of Threatened Species (ver. 2010.3). Available at: <http://www.iucnredlist.org>. (Accessed: 22/12/2017).
- Kenneth L. Riley , Edward J. Chesney & Terrence R. Tiersch (2008): Field Collection, Handling, and Refrigerated Storage of Sperm of Red Snapper and Gray Snapper, *North American Journal of Aquaculture*, 70:3, 356-364.
- Liley, N. y. Stacey L. 1983. Hormones, pheromones and reproductive behavior in fish. 1-49. En: Hoar, W., D. Randall & E. Donaldson, (Eds.). *Fish Physiology*. Academic Press, Nueva York. 469 p.

- Munro, A., A. Scott & T. Lam, Ed. 1990. Reproductive Seasonality in teleost Environmental Influences. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, 278 p.
- Pauly, D. y C. Binohlan. 1996. FishBase and AUXIM as tools for comparing life-history patterns, growth and Natural mortality of fish: Applications to snappers and groupers, p. 218-243
- Sanches Eduardo Gomes y Cerqueira Vinicius Ronzani 2010. Preservation of refrigerated sperm of the mutton snapper with diluents and modified atmosphere.
- Sanches Eduardo Gomes y Cerqueira Vinicius Ronzani 2010. Refrigeração do sêmen do ariocó *Lutjanus synagris*.
- Sanches, EG., Oliveira, IRa, Serralheiro, PCS. y Cerqueira, VR.2015 Sperm cryopreservation of lane snapper *Lutjanus synagris* (Linnaeus, 1758).
- Tucker, J. 1998. Marine Fish Culture. Academic Press, London. 506 p.

EFICIENCIA DEL SOPORTE NUTRICIONAL EN PACIENTES CANINOS PEDIÁTRICOS CRÍTICOS EN ESQUEMA DE ALIMENTACIÓN PARENTERAL PARCIAL

Cesar Augusto Flores Dueñas¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Martín Francisco Montañó Gómez², Rafael Villa Angulo³, Idalia Enríquez Verdugo¹, Tomás Rentería Evangelista²

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.
augusto.flores@uabc.edu.mx

²Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California

³Instituto de Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California

RESUMEN

Objetivo Evaluar y validar el uso clínico de un régimen de nutrición parenteral periférico (NPP) en pacientes caninos pediátricos hospitalizados.

Diseño Estudio clínico prospectivo observacional.

Individuos de Estudio e Intervención 23 Pacientes caninos menores a 6 meses de edad bajo NPP como parte del manejo intensivo del paciente, de acuerdo a edad y peso proporcionando el 40-50% del Requerimiento Energético en Reposo del mismo (RER) por un periodo de 48 horas, además de un grupo comparativo de 36 pacientes sin suplementación nutricional parenteral.

Mediciones y Resultados La media de edad de los perros en este estudio fue de 3.9 meses.

La razón de implementación de la NPP fue la presencia de anorexia y vomito (n = 23). La duración media de ayuno del paciente a la iniciación de la NPP fue de 71.16 horas.

Media de la osmolaridad en soluciones fue de 506.49 mOsm/L. No fueron observadas complicaciones sépticas o metabólicas en este estudio. La media de días de estancia en hospital hasta el alta fue de 4.3 días en los pacientes tratados y de 5.17 días en el grupo que no recibió suplementación. El porcentaje de mortalidad en la presente investigación es del 0% en ambos grupos que recibieron suplementación y de 16.6% en el grupo de estudio que no recibió soporte nutricional parenteral. Los esquemas de suplementación propuestos redujeron la pérdida de peso en un comportamiento dosis dependiente.

Conclusiones El régimen propuesto surge como una alternativa en el tratamiento del paciente pediátrico crítico mediante un aporte calórico y nutricional significativo. El anterior se vislumbra como un régimen con un importante rango de seguridad, asociado en el presente estudio con un porcentaje bajo de complicaciones y reduciendo la necesidad de

un monitoreo estricto con efectos positivos en el peso y la evolución de los pacientes dando viabilidad a su utilización.

Palabras clave: nutrición parenteral, complicaciones, cuidado crítico, dextrosa, soporte nutricional.

ABSTRACT

Objective To evaluate and validate the clinical use of a peripheral parenteral nutrition (PPN) regime on pediatric canine hospitalized patients.

Design Prospective observational clinical study.

Animals and Intervention 23 canine patients in which the NPP was used as part of an intensive patient management according to age and weight of the patient that provided 40-50% of the patient resting energy requirement (RER) for a period of 48 hours. 36 patients were also included as a comparative group without parenteral nutrition supplementation.

Measurements and Results The average age of the dogs in this study was 3.9 months. The reason to implement PN was anorexia and vomiting (n = 23). The average duration of fasting prior to initiation of patient NPP was 71.16 hours.

The Median solutions osmolarity was 506.49 mOsm/L. Metabolic or Septic complications associated with proposed parenteral nutrition scheme were not observed. The average number of days of hospital stay from admission to discharge in this study was 4.3 days. The mortality rate in this clinical research was 0% on the group of patients supplemented with parenteral nutrition and 16.6% on the group not nutritionally supplemented. Proposed parenteral nutrition schemes reduced weight loss in a dose-dependent manner.

Conclusions The proposed scheme is an alternative in the treatment of pediatric patients with significant critical nutritional and caloric intake needs, also with an important safety range associated with a low complication rate, reducing the need for strict monitoring, with positive effects on patient's improvement and weight giving viability to its implementation.

Keywords: parenteral nutrition, complications, critical care, dextrose, nutritional support

INTRODUCCION

El insuficiente aporte calórico y de nutrientes puede fácilmente complicar el curso del paciente enfermo. Seleccionando adecuadamente los pacientes candidatos a nutrición parenteral (NP) podemos incidir de manera positiva en la evolución clínica de estos, reducir el tiempo de permanencia en hospital y en algunos casos reducir incluso el costo de su tratamiento (Thomovsky et al., 2007).

Una de las opciones que se presentan al clínico de perros y gatos para proporcionar el soporte nutricional adecuado a estos pacientes en los en que la nutrición enteral no es

viable es la Nutrición Parenteral (NP). La anterior en términos conceptuales se define como la modalidad de administración de productos nutricionales por la vía intravenosa (Rombeau y Rollandelli 2001).

En el paciente canino grave un problema de común presentación es el inadecuado consumo calórico el cual se agrega a su enfermedad de base en detrimento de su pronóstico (Thomovsky et al., 2007). Aun y cuando este esfuerzo de soporte del paciente crítico fue introducido en medicina humana desde 1966 (Dudrick, 2003) y los antecedentes de la primera publicación en medicina veterinaria sobre un esquema de nutrición parenteral total en perros fueron presentados en 1977 (Thomovsky et al., 2007), no es una práctica clínica común en los hospitales especializados en perros y gatos en México.

Ha sido demostrado que la instauración de un plan de nutrición parenteral en el paciente disminuye el riesgo de muerte cuando la nutrición enteral temprana no puede ser establecida (Queau et al., 2011). La premisa principal del soporte nutricional en medicina es la de utilizar el método de alimentación que sea menos invasivo y más fisiológico para el paciente. Ante lo anterior los modelos de nutrición parenteral se presentan como una opción de alimentación la cual debe ser utilizada bajo un criterio clínico adecuado.

De acuerdo a un estudio realizado en el 2001 en Hospitales de referencia en Estados Unidos de Norteamérica, se estableció que gran parte de los pacientes hospitalizados presentaban un balance energético negativo en el 73% de los días durante su estancia de tratamiento hospitalario y en 100 por ciento de los pacientes no se cubría su requerimiento energético diario. Así mismo, el estudio concluyó que el aporte nutricional en el paciente hospitalizado incidía de manera positiva en la evolución clínica de los pacientes (Remillard et al., 2001).

Algunos autores latinoamericanos sobre el tema consideran que cerca del 50% de los pequeños animales hospitalizados están mal nutridos (González et al., 2008), consideración con la que coincidimos siendo lo anterior más relevante en el escenario del paciente en el cual la suplementación nutricional enteral por diferentes escenarios clínicos no es posible siendo la única opción viable la nutrición parenteral ante cuyos desafíos tanto técnicos como económicos su utilización se vuelve de poca viabilidad aumentando los porcentajes de malnutrición en el paciente hospitalizado lo cual contribuye a un retraso en la recuperación del paciente llevando a una situación más grave. .

La meta inicial de la nutrición parenteral en pacientes hospitalizados no es lograr una ganancia de peso, si no minimizar la pérdida de masa muscular. Los estudios mencionados han mostrado el beneficio del soporte nutricional temprano previniendo el deterioro en la función inmunológica, mejorando a la vez los procesos de cicatrización y síntesis tisular (Chan, 2005; Campbell, 2006).

Un escenario frecuente en nuestros hospitales es la presentación de pacientes con historial de inadecuado consumo calórico, el cual puede estar relacionado con diferentes componentes de enfermedad tales como anorexia, inhabilidad para comer o baja

tolerancia a la alimentación tal como los pacientes con vomito recurrente, así como disminución en la capacidad de absorción de nutrientes (Thatcher, 1996).

Aun cuando no ha sido demostrado en perros y gatos, podemos asumir que la suplementación de los requerimientos calóricos y nutricionales en estas especies pueden mejorar el pronóstico medico reduciendo la mortalidad (Chan, 2010;Liu et al., 2012). Al mismo tiempo, ha sido demostrado que la instauración de un plan de nutrición parenteral en el paciente disminuye el riesgo de muerte cuando la nutrición enteral temprana no puede ser establecida (Queau et al., 2011).

Considerando todos los puntos anteriores es relevante la evaluación y validación de un protocolo clínico de asistencia nutricional en pacientes caninos hospitalizados que se adecue a las necesidades, realidades y economía de los hospitales en México, haciendo viable su utilización regular en nuestro escenario clínico.

HIPOTESIS

La administración de nutrición parenteral periférica en esquemas del 40-50% de suplementación del RER tendrá un efecto positivo en el peso y condición corporal de los pacientes caninos pediátricos críticos durante su estancia en hospital, sin un incremento en la incidencia de efectos adversos, disminuyendo el número de días de estancia en el hospital.

Objetivo General

Evaluar y validar el uso de un régimen de nutrición parenteral periférico (NPP) y su impacto en la condición corporal y peso de pacientes caninos pediátricos hospitalizados.

Objetivos Específicos

Determinar las variaciones en la condición corporal y peso de pacientes caninos hospitalizados menores de 6 meses bajo NPP.

Describir las complicaciones metabólicas, mecánicas y sépticas de más común presentación en este grupo de pacientes bajo los regímenes de NPP evaluados.

Evaluar el efecto de la utilización de dos esquemas de NPP en el grupo de estudio sobre los días de estancia de estos pacientes desde el ingreso hasta su alta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección del Paciente

Fueron elegibles para este estudio los pacientes caninos de entre 1 y 6 meses de edad hospitalizados en el periodo de estudio establecido, los cuales el curso de su patología de base no hacia posible la alimentación enteral optima de los mismos. Del total de pacientes de estudio, a 11 de ellos se les suministró el 40% del RER, a 12 el 50% del RER, lo anterior mediante el régimen de NPP periférica propuesto además del tratamiento indicado para su patología de base y al restante (Control) de los pacientes le fue suministrado solo el tratamiento convencional para la enfermedad de presentación.

La selección de pacientes para cada grupo fue determinada por la aprobación por parte de los propietarios del régimen de nutrición parenteral, y en los pacientes en los cuales fue aprobado por el propietario su suplementación el orden de esta fue determinado aleatoriamente.

Procedimiento

A todo paciente sometido al régimen de soporte nutricional incluido en este estudio, se les colocó un catéter en una vena periférica utilizando una técnica aséptica. Los catéteres utilizados fueron para terapia intravenosa periférica, apirógenos, radiopacos compuestos de biomaterial Vialon. Cada bolsa de nutrición parenteral fue cambiada cada 24 horas mediante la utilización de una técnica aséptica. El régimen de Nutrición Parenteral Periférico fue iniciado a las 24 horas de ingreso del paciente al Hospital una vez corregido el estado de hidratación del mismo.

El requerimiento Energético Parcial (REP) a proporcionar al paciente fue determinado utilizando una formula estándar que contempló cubrir del 40% al 50% de los requerimientos energéticos en reposo del mismo (RER):

$$\text{RER} = 70 \times (\text{Peso del paciente en kg})^{0.75}$$

$$\text{REP} = \text{RER} \times (0.50) \text{ o } (0.40) = \text{_____ kcal/día}$$

En este estudio no fue agregado un factor de enfermedad al cálculo final del REP. La dosificación de acuerdo a la formula determinada, elaboración aséptica y estabilización de la nutrición parenteral fue realizado en un centro de Mezclas Especializado.

Los datos principales fueron colectados mediante la utilización de una hoja de trabajo estandarizada. Los Principales datos de Interés incluyeron peso corporal, estado corporal, total de días en hospital hasta el alta, tipo de catéter, sitio de colocación del catéter, valores de bioquímica sanguínea, biometría hemática y gases sanguíneos venosos, frecuencia y tipo de complicaciones. Las complicaciones fueron divididas de acuerdo a las más frecuentemente reportadas en estudios anteriores en Metabólicas, Mecánicas y Sépticas

Análisis Estadístico

El presente trabajo, se desarrolló en su primera parte como un estudio descriptivo y en la parte final como experimental. En este trabajo fue inicialmente utilizado un Análisis Estadístico Descriptivo. La distribución de los datos fue determinada gráficamente. Se determinó la normalidad de los datos utilizando una prueba D'Agostino-Pearson. Fue realizado un análisis mediante pruebas t independientes para la comparación de medias de los datos continuos identificados como normales y una prueba de Mann-Whitney no paramétrica para la comparación de medias de las variables con distribución no normal. Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante la utilización de un software estadístico comercial. Los resultados serán considerados estadísticamente significativos si el valor de $P < 0.05$.

Infraestructura

Hospital de Enseñanza Veterinaria en Pequeñas Especies: con equipamiento especializado en áreas de consulta externa y hospitalización, equipamiento médico y base de datos para manejo de expedientes clínicos de pacientes y el Laboratorio de Patología Clínica del Hospital de Enseñanza Veterinaria en Pequeñas Especies del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California: con equipamiento especializado para realización de química sanguínea completa, medición de electrolitos, análisis hematológico completo y medición de gases sanguíneos.

Centro de mezclas para preparación de nutrición parenteral con sala de seguridad aséptica y equipo para calibración y segunda revisión de diseño inicial de nutrición parenteral personalizada

RESULTADOS

Demográfica de los pacientes

En el presente estudio 23 pacientes recibieron el régimen de NPP propuesto, 11 de ellos suplementándose el 40% de su Requerimiento Energético en Reposo (RER) y 12 el 50% de su RER. El tercer grupo de estudio no recibió suplementación de nutrición parenteral (n= 36)

La media de edad de los perros en este estudio ha sido de 3.9 meses (1 – 6 meses). En el presente trabajo han sido representadas 7 razas de perros y perros mestizos en 2 ocasiones. La población incluyó 35.59% de hembras y 64.4% de machos, ninguno de ellos esterilizado. El peso medio de los perros en este estudio al inicio del soporte nutricional fue de 6.38 kg (1.5 – 20.9kg). La razón de implementación de la nutrición parenteral más común ha sido por la presencia de anorexia y vomito (n = 59). La enfermedad de más común presentación fue gastro-enteritis (n =59).

La aplicación de pruebas de igualdad de medias para el parámetro pérdida de peso del ingreso a la alta, entre los conjuntos de animales suplementados con el 40% RER (T1), 50% RER (T2), y la no suplementación (T3) arrojó que al comparar T1 con T2 no resultó una diferencia significativa (valor p = 0.1923), mientras que al comparar T1 con T3 y T2 con T3 resultaron diferencias muy significativas (valor p = 0.0023 y valor p = 0.0004, respectivamente).

Suministro de la Nutrición Parenteral Parcial

En el presente estudio la duración media de ayuno del paciente previo a la iniciación de la NPP es de 71.16 horas (48-96 horas). En la totalidad de los pacientes de estudio fue proporcionada terapia de líquidos cristaloides (solución ringer lactato con glucosa al 5%). La NPP fue administrada en el 100% de los casos a través de un catéter de acceso periférico colocado en la vena cefálica.

En todos los sujetos de estudio la duración de la NPP fue de 48 horas proporcionándose un soporte energético parcial del 40 % en primer grupo suplementado y 50% del requerimiento energético en reposo del paciente (RER) en el segundo grupo

suplementado. El tercer grupo de estudio solo recibió el manejo convencional médico para su patología.

La Media de la osmolaridad en las soluciones de NPP suministradas a los individuos del estudio fue de 506.49 mOsm/L (297.24.24 – 630.21 mOsm/L)

Complicaciones

Las complicaciones probables a observar basado lo anterior en reportes de literatura previos fueron agrupadas en complicaciones metabólicas, mecánicas o sépticas.

Todos los valores tanto hematológicos como de química sanguínea no registraron variación en detrimento de los pacientes que pudiera ser atribuible a la NPP posterior a las 48 horas de suplementación, siendo utilizados los valores de referencia del Laboratorio de patología clínica del Hospital de enseñanza donde fue realizado el estudio, no reportándose complicaciones metabólicas en los grupos de pacientes suplementados. No fueron observadas complicaciones sépticas en este estudio y tampoco observados datos clínicos consistentes con tromboflebitis en ninguno de los pacientes bajo NPP.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Un esquema nutricional parenteral que cubra en su totalidad los requerimientos energéticos diarios del paciente pediátrico crítico (NPT) ofrece diferentes desventajas tales como el costo, la necesidad de experiencia técnica avanzada en la colocación y mantenimiento de un catéter central, el riesgo de infecciones de fácil escalamiento a sistémicas, trombosis en vasos centrales, y una alta tasa de complicaciones metabólicas (Chandler ML y Payne-James JJ. 2006). Todas las anteriores desventajas se han establecido en diferentes trabajos, limitan el uso de la Nutrición Parenteral Total (NPT) en la práctica veterinaria cotidiana.

Gajanayake et al. 2013, recapitula la opinión de diferentes autores que establecen un aporte-meta razonable el que cubre el 40 al 70% del RER del paciente principalmente cuando esta terapia se suplementara en el corto plazo (Freeman, L. M., y D. L. Chan. 2006 y Chan, D. L. 2005), condición que de igual manera se cumple en este trabajo.

Diferentes estudios resaltan la viabilidad y tendencia actual a la utilización de esquemas hipocalóricos de soporte nutricional parenteral, el presente estudio propone la utilización de un aporte del RER del 40% , lo cual a diferencia de las publicaciones recientes de Gajanayake et al (2013) utilizando un esquema libre de lípidos y Olan, N. V., y J. Prittie (2015) cuya propuesta es una formula premezclada, en el diseño propuesto en el presente trabajo el aporte de macronutrientes (lípidos, aminoácidos y glucosa) es específico para el paciente.

En la presente investigación clínica la principal patología de base ha sido gastroenteritis. Lo anterior discrepa de lo reportado en estudios similares recientes donde las patologías primarias principales en pacientes con requerimientos de soporte nutricional parenteral fue documentada pancreatitis y trauma (Gajanayake et al 2013, Olan, N. V., y J. Prittie 2015). La anterior diferencia en cohortes o incidencia de enfermedades en pacientes

puede estar relacionada con los criterios de inclusión del presente estudio donde las patologías gastro entéricas son de alta incidencia en el paciente pediátrico, y su tardía atención en nuestro entorno convierte este grupo de pacientes en críticos.

Se ha propuesto que las dietas parenterales con lípidos en su composición pudieran causar inmunosupresión y predisponer a crecimiento bacteriano aumentando la incidencia de complicaciones sépticas. Un estudio retrospectivo previo de Queau, Y. et al 2011. utilizando una población amplia con un esquema de NPT reporta una presentación de complicaciones sépticas del 6% y estudios recientes de suplementación periférica opcionales a este trabajo con fórmulas libres de lípidos con incidencias de complicaciones sépticas entre el 0 al 7% pudieran sugerir la relevancia en lo propuesto (Gajanayake et al, 2013). El presente estudio invita a la investigación más a fondo de lo anterior al ser observada una incidencia de complicaciones sépticas del 0% aun con una carga de lípidos adecuada para aportar entre el 33 y el 60 % del RER parcial de los pacientes del grupo de estudio. Lo anterior de igual manera ha sido de relevancia en este trabajo al poder mantener los valores de osmolaridad de las soluciones en un promedio de 395.37 mOsm/L con un valor calórico importante, logrando lo anterior manteniendo el porcentaje de lípidos en mayor proporción a los demás macronutrientes (33 a 60% del RER) sin depender de la disminución de la osmolaridad en base a diluir la solución final con agua lo cual resulta relevante en mantener un volumen de aporte de líquidos adecuado en el paciente pediátrico canino disminuyendo la probabilidad de sobre hidratación. Esta baja osmolaridad promedio en el diseño que propone este estudio pudiera disminuir la incidencia de tromboflebitis y otras complicaciones metabólicas relacionadas con esta característica en los esquemas de nutrición parenteral (Chandler ML et al 2000).

De igual manera en estudios en humanos a los cuales hacen referencia Chandler ML y Payne-James JJ. 2006 la incidencia de tromboflebitis ha logrado ser disminuida mediante la utilización del catéter más pequeño posible y la utilización de catéteres poco trombo génicos así como la inclusión de lípidos los cuales se piensa son veno-protectores (Zsombor-Murray E., and L. Freeman. 1999). Lo anterior pudiera relacionarse con la nula incidencia de este fenómeno en nuestro estudio con la utilización estándar de catéteres de bajo calibre en pacientes menores a 10 kilos de peso de material avanzado no trombogénico y un diseño de la NPP en el cual el aporte de Lípidos fue suministrado en un rango de 33 al 60 por ciento de la formula nutricional total. Asimismo la utilización como constante del acceso venoso periférico cefálico en todos los individuos de estudio pudiera sumarse a la baja incidencia de complicaciones mecánicas relacionadas con el catéter tal como ha sido señalado en estudios previos donde la utilización de la vena safena en el acceso vascular aumenta el riesgo de estos eventos no deseados (Queau et al 2011).

La mayoría de los estudios similares al presente establecen que la complicación metabólica de más común presentación en la evaluación de regímenes de nutrición parenteral (Chandler ML, Payne yJames JJ. 2006, Chan, D. L. 2010), es la hiperglicemia siendo este efecto adverso consistentemente encontrado en los estudios más recientes presentándose en el 35% (Gajanayake et al, 2013) y 5% (Olan, N. V, 2015) de los pacientes en estudio. El anterior comportamiento no es consistente con lo observado en el

presente estudio donde la presentación de hiperglicemia secundaria al esquema de NPP en evaluación fue del 0%, en el presente trabajo ninguno de los pacientes en estudio presento hiperglicemia en ninguna de las mediciones realizadas. La baja tasa observada en este estudio resulta relevante dada la asociación documentada entre la presentación de este tipo de complicación con la evolución desfavorable de los pacientes cuando esta se presenta. (Torre DM et al; 2007, Kumar PJ et al; 2011).

Existe evidencia reciente tanto en medicina humana como veterinaria que la sobrealimentación, entendiéndose lo anterior como el aporte agresivo de nutrientes parenterales puede incrementar la incidencia de complicaciones, siendo más relevante lo anterior en los efectos adversos metabólicos (Crabb, S. et al, 2006 y Queau et al, 2011); Lo anterior pudiera respaldar la baja incidencia de complicaciones en el presente protocolo al reducirse la carga de nutrientes teniendo como meta cubrir solo del 40 al 50% del RER del paciente.

Los resultados de este trabajo muestran una estabilidad en la puntuación de condición corporal de los pacientes tratados con los esquemas de soporte nutricional periférico utilizados y un mantenimiento o disminución mínima en el peso de los mismos durante su estancia en hospital para el tratamiento de la patología de base, observándose una diferencia estadísticamente significativa en una menor pérdida del porcentaje de peso de los pacientes suplementados desde el ingreso hasta la alta en comparación con aquellos que no recibieron suplementación parenteral. La función de un esquema de nutrición parenteral es proporcionar suficientes valores calóricos y nutrientes con el fin de respaldar las funciones metabólicas y prevenir una pérdida importante de masa corporal lo cual proponemos en el presente trabajo es posible mediante el aporte de requerimientos energéticos y nutricionales parciales en pacientes caninos pediátricos en los cuales la expectativa de estancia en hospital sea corta.

Aun cuando las comparaciones entre estudios deben ser analizados con cautela, basado lo anterior en las diferentes características en tamaño de población, escenarios clínicos, esquemas propuestos y demás factores que inciden en la evolución del paciente frente a su patología de base, el comparativo de resultados con estudios recientes de mayor tamaño permiten proponer la viabilidad de los esquemas de soporte nutricional parenteral parcial que propone este trabajo

LITERATURA CITADA

Campbell, S. J. 2006. Central and peripheral parenteral nutrition, WALTHAM Focus Vol 16 No 3.

Chan, D. L., I. M. Freeman, M. A. Labato, J. E. Rush. 2002. Retrospective Evaluation of Partial Parenteral Nutrition in Dogs and Cats. J Vet Intern Med 16:440-445. ISSN:1939-1676; DOI [10.1111/j.1939-1676.2002.tb01262.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb01262.x)

Chan, D. L. 2005. Parenteral nutritional support. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds). Textbook of Veterinary Internal Medicine. 6:586-591. Elsevier Saunders, St. Louis, MI. ISBN 1-4160-0110-7.

Chan, D.L., and L. M. Freeman. 2006. Nutrition in Critical Illness. Vet Clin Small Anim 36:1225–1241. ISSN: 0195-5616; DOI: [10.1016/j.cvsm.2006.08.009](https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2006.08.009)

Chan, D. L. 2010. Parenteral nutritional support. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds). Textbook of Veterinary Internal Medicine. 7ed: 701-707. Elsevier Saunders, St. Louis, MI. ISBN 10: 1416065938.

Dudrick, S. J. 2003. Early developments and clinical applications of total parenteral nutrition. JPEN J Parenter Enteral Nutr 27:291–299. ISSN:1941-2444; DOI:[10.1177/0148607103027004291](https://doi.org/10.1177/0148607103027004291).

Freeman, L. M., and D. L. Chan. 2006. Parenteral nutrition. Dibartola SP Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice. Ed Saunders St Louis 584. ISBN 13 978-0-7216-3949-9.

González, M. S., C. Vélez, C. M. Acevedo, e I. C. Ruíz. 2008. Nutrición parenteral post-quirúrgica en un paciente canino sometido a corrección de ruptura vesical. Reporte de un caso. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, vol. 21, núm. 1:77-86. ISSN 0120-0690 aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/view/324258/20781430

Liu, D. T., D. C. Brown, D. C. Silverstein. 2012. Early nutritional support is associated with decreased length of hospitalization in dogs with septic peritonitis: A retrospective study of 45 cases (2000-2009). J. Vet. Emerg. Crit. Care. 22:453-459. ISSN:1476-4431; DOI: 10.1111/j.1476-4431.2012.00771.x.

Queau, Y., J. A. Larsen, P. H. Kass, G. S. Glucksman, and A. J. Fascetti. 2011. Factors Associated with Adverse Outcomes during parenteral Nutrition Administration in Dog s and Cats. J Vet Intern Med. 25(3):446-52. ISSN:1939-1676; DOI: 10.1111/j.1939-1676.2011.0714.x

Remillard, R. L., D. E. Darden, and K. E. Michel. 2001. An investigation of the relationship between caloric intake and outcome in hospitalized dogs. Vet Ther. 2:301-310. ISSN: 1528-3593.

Thomovsky, E., A. Reniker, R. Backus, F. Mann, and J. Dodam. 2007. Parenteral Nutrition: Uses, Indications, and Compounding. Compendium (Vol 29, No 2). ISSN: 1940-8307

EFFECTO DE DOS ÁREAS DE SOMBRA Y GENOTIPO EN PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE VAQUILLAS ENGORDADAS EN CORRAL

José Antonio Aguilar Quiñonez, Juan Eulogio Guerra Liera, Rubén Barajas Cruz, Lonel Avendaño Reyez, Miguel Angel Gastelum Delgado

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se ha aceptado una tendencia de aumento en la temperatura ambiente como una consecuencia del calentamiento global (IPCC, 2007). Este aumento de la temperatura puede acompañarse de efectos negativos importantes en el sector agropecuario, lo cual a su vez puede perturbar la seguridad alimentaria en el planeta. En México, las principales operaciones de ganado bovino de engorda se localizan en estados ubicados en zonas áridas y semiáridas del norte del país, donde la producción de insumos hace más fácil y rentable esta actividad. Sin embargo, estas regiones se también distinguen por presentar altas temperaturas y/o humedad relativa durante el verano (Avendaño *et al.*, 2011). Las altas temperaturas provocan en el animal alteraciones fisiológicas que conducen a una condición fisiopatológica conocida como estrés calórico (Avendaño *et al.*, 2013). Esta condición ocurre cuando existen cargas excesivas de calor junto con baja velocidad del viento y elevada radiación solar, lo que afecta directamente el rendimiento y el bienestar animal; este escenario se intensifica bajo sistemas de producción en confinamiento (Mitlöhner *et al.*, 2002; Vásquez-Requena *et al.*, 2017). La respuesta al estrés calórico (EC) es muy compleja debido a factores como genotipo, edad, condición corporal, color de pelaje y estatus sanitario. No obstante, el bovino responde mediante la modificación de sus procesos fisiológicos y de conducta para reducir la carga calórica, como son cambios en parámetros hematológicos y bioquímicos, en síntesis y secreción de hormonas, así como en actividades de postura y caminado, entre otros (Silanikove, 2000; Sullivan *et al.*, 2011). El conocimiento de alternativas que ayuden a mitigar el EC en épocas calurosas es de suma importancia para el sector ganadero. Dentro de estas alternativas se pueden enlistar la manipulación nutricional de la dieta (Duff *et al.*, 2007), cambios en la frecuencia y hora de alimentación (2), así como la manipulación ambiental del entorno de los animales (Davis *et al.*, 2003). Dentro de las opciones de manipulación ambiental se considera al uso de sombras como manejo básico para proteger a los animales y evitar el aumento en su temperatura corporal (Correa *et al.*, 2004). Sin embargo, la determinación del espacio o área de sombra por animal en sistemas de producción intensivo se ha propuesto como un problema que influye en el estrés para el ganado de engorda, sobre todo cuando éstos se encuentran en zonas cálidas. Aengwanich *et al.* (2011) evaluaron el efecto de proporcionar sombra artificial, sombra natural y sin sombra mediante la comparación de parámetros fisiológicos usando ganado Brahman. Los animales sin sombra tuvieron frecuencia respiratoria, tasa de sudoración y relación neutrófilos/linfocitos más elevada que animales con sombra. Sullivan *et al.* (2011) evaluaron diferentes áreas de sombra (0, 2.0, 3.3 y 4.7 m²/animal) en ganado Angus, encontrando que proveer sombra mejoró el bienestar y productividad de

los animales; además, señalan que proveer más de 2 m²/animal de sombra no produjo mejores resultados. Sin embargo, en presencia de ondas de calor, proveer más de 2 m²/animal mejoró el bienestar del ganado. Estos resultados demuestran que el uso de sombra es esencial en explotaciones de bovinos ubicadas en zonas cálidas, sin embargo, el área de sombra por animal que mejore su bienestar es un aspecto que aún no está determinado.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue comparar el efecto de proporcionar dos áreas de sombra por corral (2.7 y 3.7 m²/animal) en concentraciones hematológicas y bioquímicas de vaquillas cebú y europeas engordadas bajo condiciones de estrés por calor en una zona árida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio y duración

El estudio se realizó en las instalaciones de una engorda privada de bovinos productores de carne que maneja alrededor de 15,000 bovinos y está ubicada en el Ejido Saltillo, Valle de Mexicali, Baja California, en el noroeste de México. Su ubicación geográfica es 32°25'27" latitud norte y 115°07'30" de longitud oeste. El clima de la zona es árido, seco y extremoso, muy frío en invierno (< 0°C) y muy caliente en verano (> 45°C). La precipitación pluvial es escasa, con promedio anual de 86 mm que se concentran en diciembre y enero (García, 1987). El estudio abarcó el periodo más cálido del año en la zona, durante los meses de julio a septiembre, con una duración promedio de 66 d.

Animales, corrales experimentales y tratamientos

Se consideraron 510 vaquillas en fase de finalización con peso inicial promedio de 432 ± 28 kg. Las vaquillas fueron de genotipo europeo, cebú y sus cruzas, que se asignaron aleatoriamente a seis corrales y se dividieron en dos tratamientos con base a la concentración de animales por corral: T1) tres corrales con 100 vaquillas cada uno (densidad de sombra 2.7 m²/animal); y T2) tres corrales con 70 vaquillas por corral (densidad de sombra 3.7 m²/animal). La dimensión de los corrales fue 30 x 30 m, mientras que la de las sombras fue 30 x 6.35 m en T1 y 30 x 12.3 m en T2, con orientación N-S. El material de las sombras fue natural, usando una planta nativa de la zona llamada Cachanilla (*Pluchea sericea*). En T1 se tuvo un área por corral de 9 m²/animal, mientras que T2 tuvo área de 12.9 m²/animal. Cada corral contó con comedero tipo canoa linealmente dispuesto del lado este del pasillo y bebedero automático. La raza de la vaquilla fue el segundo factor que tuvo dos niveles, genotipo europeo y genotipo cebú.

Composición racial de las vaquillas y tratamientos

En cada corral se identificaron fenotípicamente animales de 3 genotipos: tipo europeo, tipo cebú y cruza europeo x cebú. Dado que de estos últimos su número era limitado en cada corral, se seleccionaron vaquillas bien definidas de genotipo cebú y europeo solamente. En el caso de vaquillas cebú, se identificaron animales con jiba, orejas largas y pendulosas, papada y animales altos. En el caso de vaquillas tipo europeo, se tomó en cuenta que fueran de raza Charolaise y Simmental.

Alimentación de los animales e ingredientes de la dieta

El alimento se ofreció dos veces por día (07:00 y 14:30 h) y la ración consistió en: maíz rolado (71.5%), granos secos de destilería (12%), ensilado de sorgo dulce (10%), heno de alfalfa (4%) y premezcla comercial de minerales (2.5%). La composición química de la dieta fue 94.6% de materia seca (MS), 2.3% de proteína cruda, 5.6 de cenizas, extracto etéreo 6.03% y fibra detergente neutro 51.6%.

Procedimiento experimental

El estudio inició el 25 de julio, sin embargo, los animales se vendieron de acuerdo a las necesidades del mercado en fechas distintas que en promedio tuvieron una duración de 66 d. Los muestreos sanguíneos coincidieron con los días de pesaje, ya que los sangrados se realizaron en la báscula-trampa. Estos días fueron 1, 28 y 66, tratando de que coincidieran con el inicio, mitad y final de su engorda. Se registraron variables fisiológicas en 30 vaquillas seleccionadas aleatoriamente de cada tratamiento (10 por corral); de ellas, 15 vaquillas fueron tipo *Bos indicus* y 15 tipo *Bos taurus*. Se colectaron dos tubos, uno para estimar las variables hematológicas con sangre entera que se llevaba al Laboratorio de Fisiología Animal del ICA-UABC para su análisis inmediato, mientras que el otro se centrifugaba y posteriormente se le determinaban metabolitos, electrolitos y hormonas en el mismo laboratorio.

Variables de respuesta

Las variables climáticas temperatura y humedad relativa se colectaron de higrotermógrafos colocados en el sitio experimental y con ellas se estimó el índice temperatura-humedad (ITH) utilizando la fórmula propuesta por (Hahn, 1999):

$$\text{ITH} = 0.81 * \text{Temp} + \text{HR} / 100 * (\text{Temp} - 14.4) + 46.4$$

Se colectaron dos muestras de sangre, la primera en tubos vacutainer de 10 ml mediante venopunción en la vena yugular antes de la alimentación matutina. Las muestras se centrifugaron a 350 g durante 15 min a 10° C; el suero se separó por duplicado en viales de 2 ml y se almacenó a -20° C para su posterior análisis en el Laboratorio de Fisiología Animal del ICA-UABC. Los metabolitos (glucosa, colesterol, urea, triglicéridos y proteína total) se analizaron con un equipo de química sanguínea (Model DT-60, Johnson Co.; High Wycombe, UK), mientras que los electrolitos (Na⁺, Cl⁻ y K⁺) se analizaron con un equipo automatizado (Electrolyte Analyzer LW E60A; Landwind Medical; Shenzhen, China). También se determinaron las hormonas triiodotironina (T₃) y tiroxina (T₄) mediante un analizador automático para pruebas de Elisa y pruebas de Quimioluminiscencia (CLIA) con un equipo Thunderbolt® Analyzer (Davis, CA, USA). Para estimar los componentes hematológicos, el segundo muestreo de sangre se colectó en tubos vacutainer de 4 ml que contenían EDTA-K2, para posteriormente en sangre fresca determinar concentraciones de los siguientes componentes hematológicos usando un equipo automatizado (Auto Hematology Analyzer, Mindray, BC-2800 Vet; Shenzhen, China): glóbulos blancos (Gb), leucocitos (Leu), linfocitos (Lin), monocitos (Mon), granulocitos (Gran), glóbulos rojos (Gr), hemoglobina (Hb), hematocrito (Htc), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración corpuscular media

de hemoglobina (CCMH), ancho de distribución de eritrocitos (ADE), ancho de distribución del tamaño plaquetario (ADTP), plaquetas (Plt) y volumen medio de plaquetas (VMP).

Análisis estadístico

Las variables climáticas se analizaron por medio del procedimiento de medias de SAS (15), presentando valores mínimos, máximos y promedio de temperatura ambiente, humedad relativa e ITH. Esta información se clasificó por el periodo completo del estudio y además en dos periodos del día (10:00 – 19:00 y 23:00 – 08:00 h). Las variables de estudio se analizaron mediante un arreglo factorial 2x2 en un diseño completamente al azar con mediciones repetidas, considerando la anidación de corral en tratamiento. Los factores fueron: área de sombra por animal (T1 y T2) y genotipo (europeo y cebú). La medida del tiempo fue el momento del muestreo (días 1, 28, 66). Las diferencias entre medias ajustadas se detectaron con una prueba de t student para parejas de medias a través de la opción PDIFF/STDERR y el nivel de error utilizado fue 5%. Los análisis se realizaron con el procedimiento GLM (General Linear Models) del programa estadístico (SAS, 2004).

RESULTADOS

Cuadro 1. Promedios de variables climáticas registradas en la mañana, en la noche y en el periodo completo durante el estudio (*Agosto a septiembre).

	Mínima diaria			Máxima diaria			Promedio diario		
	HR	Temp	ITH	HR	Temp	ITH	HR	Temp	ITH
10:00 a 19:00 h	34.4	32.7	81.8	49	38	85.6	39.5	36.5	84.6
23:00 a 08:00 h	51.4	26.7	76.4	68.8	34.3	84.4	63	29	79
Periodo completo*	34.4	26.7	76.4	68.8	38	85.6	51.9	32.6	81.7

ITH = Índice temperatura-humedad; HR = Humedad relativa; Temp = Temperatura

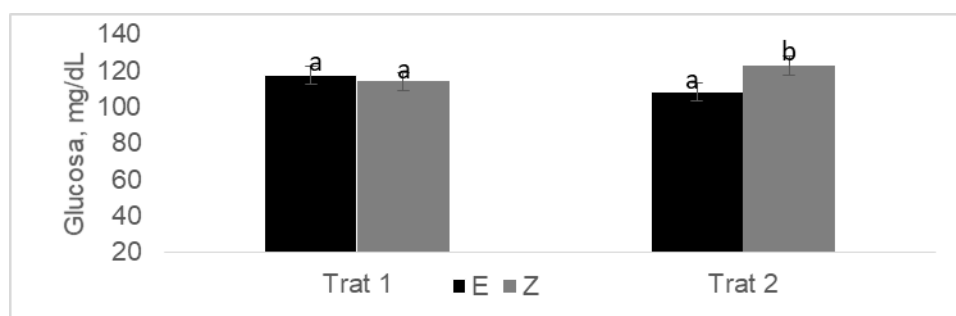
Cuadro 2. Concentraciones séricas de electrolitos y metabolitos en vaquillas *Bos indicus* y *Bos taurus* sujetos a dos diferentes áreas de sombra.

Variables	Área de sombra			Genotipo		
	1	2	EE	EUROPEO	CEBÚ	EE
K ⁺ , mmol/L	5.0	4.88	0.08	4.88	5.00	0.88
Na ⁺ , mmol/L	134.9 ^b	132.3 ^a	0.63	133.2	134.0	0.64
Cl ⁻ , mmol/L	108.8 ^a	110.0 ^b	0.23	109.7	109.1	0.24
Colesterol, mg/dL	240.0	225.5	6.53	228.9	236.6	6.69
Proteína total, mg/dL	7.91	7.98	0.04	7.89	7.99	0.04

Triglicéridos, mg/dL	36.19	33.27	1.50	34.52	34.94	1.54
Urea, mg/dL	21.45 ^b	19.68 ^a	0.50	20.22	20.91	0.50

^{ab} Medias con distinta literal en hilera difieren (P<0.05).

Figura 1. Concentraciones de glucosa en vaquillas *Bos indicus* y *Bos taurus* sujetas a dos



diferentes áreas de sombra.

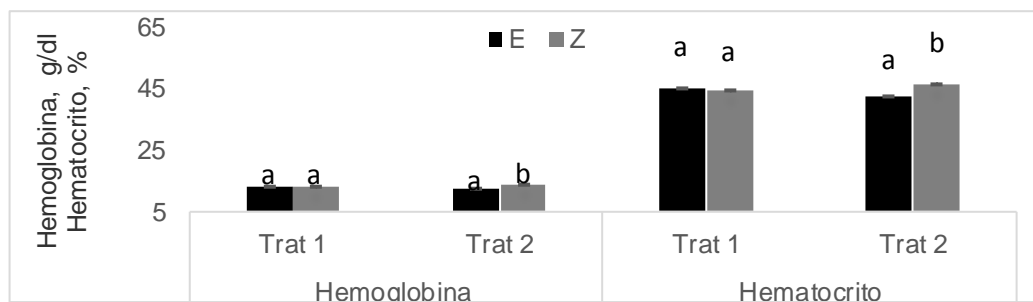
(^{a,b}) Medias con distintas literal difieren (P<0.05 E=europeo, Z=cebú).

Cuadro 3. Variables hematológicas en vaquillas *Bos indicus* y *Bos taurus* sujetas a dos diferentes áreas de sombra.

Variables	Área de sombra			Genotipo		
	1	2	EE	EUROPEO	CEBÚ	EE
Glóbulos blancos, X 10 ⁹ /L	9.13	9.03	0.32	8.43 ^a	9.72 ^b	0.32
Linfocitos, X 10 ⁹ /L	3.98	4.36	0.17	3.78 ^a	4.56 ^b	0.17
Monocitos, X 10 ⁹ /L	0.83	0.82	0.03	0.79	0.85	0.03
Granulocitos, X 10 ⁹ /L	4.31 ^b	3.84 ^a	0.16	3.85 ^a	4.30 ^b	0.16
Linfocitos, %	43.62 ^a	47.89 ^b	0.92	45.11	46.38	0.93
Monocitos, %	9.48	9.20	0.18	9.74 ^b	8.94 ^a	0.18
Granulocitos, %	46.51 ^b	43.11 ^a	0.90	44.92	44.69	0.89
Glóbulos rojos, X 10 ¹² /L	9.18	9.41	0.15	9.12	9.47	0.15
VCM, X 10 ¹⁵ /L	48.61	47.44	0.51	48.21	47.84	0.51
HCM, Pg	14.12	13.94	0.15	14.12	13.94	0.15
CCMH, g/Dl	29.18	29.51	0.14	29.43	29.26	0.14
Volumen de plaquetas, X 10 ¹⁵ /L	4.94	4.94	0.04	4.85 ^a	5.02 ^b	0.04
ADTP, %	16.13	16.19	0.05	16.16	16.15	0.05
Plaquetas, X 10 ⁹ /L	380.2	396.0	29.3	387.2	389.0	29.6
Plaquetocrito, %	0.18	0.20	0.01	0.19	0.19	0.01
Triiodotironina, g/dL	1.14 ^a	1.29 ^b	0.03	1.18	1.26	0.03
Tiroxina, g/dL	5.62	5.79	0.1	5.59	5.83	0.1

^{ab} Medias con distinta literal en hilera difieren ($P < 0.05$).

Figura 2. Concentraciones de hemoglobina y hematocrito en vaquillas *Bos indicus* y *Bos taurus* sujetas a dos diferentes áreas de sombra (^{a b} medias con distintas literal difieren



($P < 0.05$; E= europeo, Z=cebú).

DISCUSIÓN

Variables climáticas

De acuerdo a la clasificación del estrés calórico para ganado de engorda en corral señalada por Brown-Brandl *et al.* (2006), el valor donde inicia el estrés calórico para este tipo de animales es 75 unidades de ITH, el cual se considera estado de alerta y en la que es necesario tomar medidas para evitar la carga calórica. Esta clasificación del ITH considera que de 79 a 84 unidades el animal está en peligro y 84 unidades o más en emergencia, la cual es la clasificación más alta de estrés calórico. De acuerdo a esta información, los resultados de las condiciones ambientales durante el periodo experimental del presente estudio para ambos tratamientos demuestran que los animales se encontraban bajo condiciones de estrés calórico peligroso durante la mayor parte del periodo experimental, dado que el ITH fue mayor a 75 unidades desde las 10:00 a las 23:00 h diariamente. Las temperaturas promedio registradas por encima de 30°C, aunadas a una HR oscilando entre 34.4 y 68.8%, provocaron que la zona de confort de las vaquillas fuera excedida durante el periodo experimental (Brown-Brandl *et al.*, 2005). El promedio de ITH durante el periodo completo fue de 81.7 unidades. Por otro lado, Silanikove, (2000) menciona que un ITH mayor a 78 unidades puede causar en el animal complicaciones para regular la temperatura de su organismo.

Electrolitos

En el presente estudio, la respuesta entre vaquillas de tipo cebú y europeo ante los efectos del estrés calórico tendió a comportarse de manera similar, sin embargo, se encontraron diferencias entre las dos densidades de sombra, presentándose mayores concentraciones de Na⁺ en T1 y menores concentraciones de Cl⁻ en el T2. No obstante, los valores encontrados de estos electrolitos estuvieron dentro de los rangos establecidos por Wood (2010). Esto contrasta con lo señalado por Beatty *et al.* (2014), quienes reportan que ganado cebú y europeo bajo condiciones de estrés calórico tuvieron menores niveles de Na⁺ en plasma, mientras que los niveles de K⁺ y Cl⁻ no fueron

afectados ni por genotipo ni por época del año. Por su parte, Scharff *et al.* (2014) realizaron un estudio durante 14 d para evaluar la capacidad termorreguladora en dos razas de ganado *Bos Taurus* sometidos a estrés por calor (temperaturas = noche: 26 ° C y día: 36 ° C). Estos autores encontraron que los niveles sanguíneos de K⁺ y Na⁺ no fueron afectados por la incidencia de las altas temperaturas, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio. Se espera que en condiciones de estrés calórico exista una reducción en los niveles de Na⁺ y K⁺, así como un aumento en los niveles de Cl⁻ (Beatty *et al.*, 2014). También se menciona que las concentraciones de Na⁺ en sangre pueden reducirse en épocas de verano por un incremento en la excreción urinaria por aumento en la ingestión de agua, la cual a su vez es provocada por la baja producción de la hormona aldosterona. Sin embargo, cationes y aniones como Na⁺, Cl⁻ y K⁺ intervienen en el mantenimiento del equilibrio ácido-base, de manera que en el animal existen mecanismos hipotalámicos que evitan la excreción de agua y pérdida de electrolitos mediante la estimulación y secreción de la hormona vasopresina (Silanikove, 2000). Estos resultados obtenidos son posiblemente debido a que los animales no se encontraron bajo condiciones climáticas decisivas para causar en los animales algún grado de deshidratación, también es importante reconocer que los animales disminuyen la carga calórica durante las horas de la noche y madrugada debido a las corrientes de aire al encontrarse en ausencia de radiación solar de manera directa o indirecta. Así, es posible que las vaquillas disiparan calor a través de radiación por las noches.

Metabolitos

La importancia de la cuantificación de perfiles metabólicos sanguíneos reside en que es una herramienta indicadora del balance nutricional en los animales (Wittwer, 2000). No obstante, dichos perfiles también son considerados como indicativos importantes del comportamiento adaptativo de un animal a un determinado ambiente (Sejian *et al.*, 2010). Parámetros bioquímicos como la glucosa y el colesterol son comúnmente los más evaluados en animales debido a la relación que tienen con el metabolismo de la energía. Mientras que urea y proteína total se asocian al metabolismo de las proteínas (Ribeiro *et al.*, 2014). Ocak *et al.* (2009) encontraron que la reducción en glucosa y colesterol puede ser un indicativo de fallas en la homeostasis debido a la incidencia de altas temperaturas. La reducción en los niveles de glucosa se atribuye a la producción de energía requerida para sustentar el incremento en los requerimientos de energía necesarios para la actividad muscular del sistema respiratorio (Rasooli *et al.*, 2004). Mientras tanto, la reducción en los niveles de colesterol se atribuye a la disminución en el consumo de alimento (Sejian *et al.*, 2010). Esta situación fue observada en tratamiento 2, donde las vaquillas cebú mantuvieron mayores niveles de glucosa que las vaquillas europeas. Sin embargo, los niveles obtenidos se encontraron por encima de los valores normales en glucosa (54-79 mg/dl) y colesterol (80-120 mg/dl), señalados para bovinos adultos (RAR, 2000). Este incremento en colesterol coincide con la afirmación de Rasooli *et al.* (2004), quienes señalan que el incremento de colesterol en sangre se debe a que existe un aumento en la utilización de ácidos grasos para producir energía, como consecuencia de la disminución en la concentración de glucosa en animales estresados por calor. Por otro lado, el cortisol limita a la glucosa como principal fuente de energía, y a su vez incrementa los niveles de triglicéridos y proteínas como reservas de energía (Bernabucci *et al.*, 2010).

Sin embargo, de acuerdo con RAR (2000), los niveles obtenidos en el presente estudio estuvieron dentro del rango normal, probablemente porque las necesidades de energía en el animal se cubrían adecuadamente. Las concentraciones de urea sanguínea también se encontraron dentro de los rangos normales, lo que coincide con Merk. (2018), quien reporta valores de 10 a 25 mg/dl de urea como rango normal.

Hormonas T3 y T4

Las hormonas tiroideas ejercen acciones de gran efecto en el metabolismo energético y se consideran indicadoras del estado metabólico y nutricional de los rumiantes, por lo que el funcionamiento adecuado de dichas hormonas es considerado esencial para la producción de los animales en el sector agropecuario. Las hormonas tiroideas tiroxina (T4) y triiodotironina (T3) cumplen un papel importante en reacciones bioquímicas, sin embargo, su principal acción se lleva a cabo sobre varios tejidos musculares (Todini *et al.*, 2007). Un problema asociado a estas hormonas es el hipotiroidismo, el cual se puede llegar a padecer si existe secreción insuficiente de estas hormonas. Esto resulta en efectos negativos sobre el bienestar y la producción de los animales (Martínez *et al.*, 2001). Factores ambientales como presencia de altas temperaturas causan disminución en la secreción de hormonas tiroideas, respuesta reconocida como mecanismo de defensa para mantener la homeostasis, lo que promueve la disminución en el consumo de alimento y, por ende, en reducción de la producción de calor metabólico (Correa *et al.*, 2007). En este sentido, los resultados obtenidos en el presente estudio marcan una disminución considerable en las concentraciones de T3 conforme la época de verano aumenta. Esto coincide con Marai y Haebe (2010), quienes realizaron un estudio en búfalos durante condiciones de estrés calórico y observaron disminución en las concentraciones de T3 y T4. Bajo este planteamiento, se cree que existe fuerte asociación entre las concentraciones de hormonas tiroideas y el consumo de alimento. En el presente estudio, la concentración de T3 fue mayor en el grupo con mayor sombra por animal, es decir, que estuvieron más espacio y sombra que el grupo con menos sombra y espacio. Esto coincide con los resultados de Correa-Calderón *et al.* (2007) en un estudio realizado bajo condiciones ambientales similares donde encontró mayor concentración de T3 en animales bajo condiciones de sombra y enfriamiento con respecto a los de sólo sombra. Estos resultados se atribuyen a que proporcionar un mejor ambiente mejora la reducción de la carga calórica y mejora el metabolismo basal. Sin embargo, la respuesta hormonal ante condiciones adversas afecta de manera diferente a los animales, ya que razas cebú, a diferencia de las europeas, presentan mejor adaptación a altas temperaturas (Hansen, 2004). Esto coincide con los resultados del presente estudio, porque las vaquillas cebú tuvieron mayor concentración de hormonas tiroideas que vaquillas tipo europeo.

Hematología

Los perfiles hematológicos de los animales se consideran indicadores del estado de salud y metabólico en el que se encuentran. Esto en razón de que el equilibrio y funcionamiento fisiológico es dependiente del torrente sanguíneo. Parámetros de componentes hematológicos son indicadores importantes del estado fisiológico y patológico en el

animal, y pueden verse alterados por la calidad y cantidad de sangre circundante (Bhan *et al.*, 2012). No obstante, las concentraciones de estos componentes en sangre pueden ser afectadas por diferentes factores que ejercen influencia sobre la actividad hematológica de los animales como estado fisiológico, edad, raza y condiciones ambientales (Ribeiro *et al.*, 2014). En este sentido, en el animal existe una respuesta ante la influencia de altas temperaturas que es la reducción del flujo sanguíneo a órganos internos, redistribuyéndolo hacia la periferia y hacia los músculos asociados con los ciclos respiratorios, lo que provoca cambios en los niveles de algunos componentes hematológicos. Entre los principales componentes hematológicos se encuentran los glóbulos blancos como: Leu, Lin, Mon, Gran. Dichos componentes son responsables de la producción de anticuerpos. Sin embargo, ante condiciones de estrés, suelen detonarse efectos negativos en el organismo como reacciones de clase nerviosa y endocrina que se activan, lo que resulta en la liberación de hormonas corticosteronas, que poseen efecto de inmunosupresión (López *et al.*, 2014). Ante condiciones de estrés calórico, la producción de glucocorticoides aumenta, lo que resulta en un incremento de leucocitos circundantes en sangre. El número total de linfocitos en torrente sanguíneo en ganado *Bos indicus* fue mayor en comparación de *Bos taurus*, lo que se atribuyó a la relación que existe entre el perfil de linfocitos y el nivel glucocorticoides, así como a la mayor liberación de corticosterona en *Bos taurus*. Los promedios totales de linfocitos en ganado *Bos taurus* fueron menores en comparación de *Bos indicus*, sin embargo, ambos se encontraban dentro de los valores de referencia (Merk. 2018). Dichos resultados no concuerdan con un estudio realizado por Cardoso *et al.* (2005) en ganado cebú de distintas razas bajo condiciones de estrés calórico, quienes encontraron que las concentraciones de linfocitos fueron afectadas durante la exposición del ganado a estrés, aumentando los niveles de linfocitos. Por otro lado, en la variable monocitos se encontraron niveles elevados en ambos genotipos en relación a los presentados por Merk (2018). Esto concuerda con los resultados presentados por Stanger *et al.* (2005), quienes mencionan que animales bajo condiciones de estrés calórico tienden a aumentar los niveles de monocitos por efecto de las condiciones ambientales. Lo que contrasta con Gutiérrez-de la Rosa *et al.* (1971) quienes no observaron diferencias sobre la cantidad de glóbulos blancos entre ganado *Bos taurus* y *Bos indicus* bajo condiciones de altas temperaturas. No obstante, otros componentes hematológicos son los GR, Hb, Htc, VCM, HCM, CCMH, ADE, ADTP, Plt y VMP. Habitualmente, el conteo de estos componentes en sangre es desde un punto de vista clínico importante, niveles normales eritrocitos en sangre, indica una síntesis normal de hemoglobina en glóbulos rojos, y de esta manera existe una mejor capacidad de transportar oxígeno desde los pulmones por medio del torrente sanguíneo hacia los tejidos del cuerpo (Cunningham, 2014). En el presente estudio las concentraciones de hemoglobina fueron mayores para ganado *Bos indicus* que *Bos taurus*. Sin embargo, estos valores se encontraron dentro de los rangos descritos por RAR (2000) y Merk (2018) para ambos genotipos. Esto puede sugerir que los animales bajo estudio estuvieron ausentes de enfermedades en función de que la producción y liberación de glóbulos rojos logran una mayor capacidad hacia el sistema respiratorio como mecanismo termorregulador (Reece, 2006). Mientras que los niveles de la variable hematocrito se encontraron dentro de los niveles de referencia descritos por Merck (2018). Sin embargo,

el nivel de hematocrito en *Bos indicus* fue mayor a diferencia de ganado *Bos taurus*. De manera general, la mayor concentración de algunos componentes de glóbulos rojos se encontró en ganado *Bos indicus*, estos componentes son los responsables de ligar el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos del organismo, por lo tanto, bajo condiciones de estrés calórico el ganado cebú promueve de manera más eficiente la producción y liberación de estos componentes como una medida de adaptación (Reece, 2006).

En general, el área de sombra no afectó de manera importante la fisiología de las vaquillas en su etapa final de la engorda, posiblemente porque fueron animales que ingresaron a la engorda desde la época de primavera, por lo que pudieron adaptarse a las condiciones climáticas cálidas conforme el verano se hizo presente.

CONCLUSIONES

Las variables hematológicas, electrolitos, metabolitos y hormonas T3 y T4 en vaquillas de engorda en finalización presentaron ligeras diferencias por efecto del área de sombra por animal y genotipo. Es posible que las vaquillas se hayan adaptado al clima cálido, por lo que no exhibieron modificaciones importantes en sus parámetros hematológicos y bioquímicos en respuesta al área de sombra durante el periodo de finalización de la engorda.

LITERATURA CITADA

Aengwanich W, Kongbuntad W, Boonsorn T. 2011. Effects of shade on physiological changes, oxidative stress, and total antioxidant power in Thai Brahman cattle. *Int J Biometeorol*;55(5):741-748. DOI: 10.1007/s00484-010-0389

Avendaño RL, Álvarez FD, Correa CA, Torrentera NG, Torres V, Ray DE. 2011. Frecuencia de alimentación e iluminación nocturna y productividad de vaquillas para engorda en verano. *Arch Zoot*;60(232):1247-1254. ISSN 0004-0592; doi.org/10.4321/S0004-05922011000400039

Avendaño RL. La Ganadería en Baja California ante el Cambio Climático. Capítulo 4. 2013. En: Baja California ante el embate del cambio climático. Editorial UABC. M. Quintero (Ed). Mexicali, B.C., México.

Barajas R, Garces P, Zinn RA. 2013. Interactions of shade and feeding management on feedlot performance of crossbred steers during seasonal periods of ambient temperature. *Prof Anim Scient*; 29:645-651. DOI: [https://doi.org/10.15232/S1080-7446\(15\)30296-5](https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30296-5)

Beatty DT, Barnes A, Taylor E, Pethick D, McCarthy M, Maloney SK. 2014. Physiological responses of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle to prolonged, continuous heat and humidity. *J Anim Sci*; 84:972-985. ISSN 16543578.

Bernabuccil U, Lacetera NL, Baumgard H, Rhoads RP, Ronchil B, Nardone A. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *J Anim Consor*;4(7):1167-1183. PMID: 22444615; DOI: 10.1017/S175173111000090X.

Bhan C, Singh SV, Hooda OK, Upadhyay RC, Beenam, Vaidya M. 2012. Influence of temperature variability on physiological, hematological and biochemical profile of growing and adult Sahiwal cattle. *J Environ Res Develop*; 7(2A):986-984.

Brown-Brandl T, Eigenberg R, Nienaber J, Hahn GL. 2005. Dynamic response indicators of heat stress in shaded and non-shaded feedlot cattle, Part 1: Analyses of Indicators. *J Biosyst Eng*;90(4):451-462. DOI:10.1016/j.biosystemseng.2004.12.006.

Brown-Brandl TM, Nienaber JA, Eigenberg RA, Mader TL, Morrow JL, Dailey JW. 2006. Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. *Livest Sci*; 105:19-26.

Cardoso CC, Peripolli V, Amador SA, Brandão EG, Esteves GIF, Sousa CMZ, *et al.* 2005. Physiological and thermographic response to heat stress in zebu cattle. *Livest. Prod Sci*; 182:83-92. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.10.022>

Correa CA, Yáñez CVM, Verdugo ZFJ, Avendaño RL, Álvarez AE, Árechiga, *et al.* 2007. Respuesta fisiológica y productiva de novillos engordados con un sistema de enfriamiento a espacio abierto en un clima árido y seco. *Tec Pec Mex*;45(3):345-354. ISSN-e: 2448-6698.

Correa CA, Yáñez V, Verdugo F, Avendaño RL. 2004. Efecto de un sistema de enfriamiento a espacio abierto en la eficiencia productiva de novillos Holstein durante el verano. *Interciencia*; 29:86-88. ISSN: 0378-1844.

Cunningham JG. *Fisiología Veterinaria*. 5ta ed. México D.F.: Ed. Elsevier; 2014.

Davis S, Mader TL. 2004. Adjustments for wind speed and solar radiation to the temperature humidity index. *Nebraska Beef Cattle Reports* 2003;49-51.

Duff GC, Galyean ML. 2007. Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J Anim Sci*;85(3):823-840. PMID: 17085724; DOI: 10.2527/jas.2006-501.

García E. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koeppen*. 3ra. Ed. México, D.F., Universidad Nacional Autónoma de México; 1987.

Gaughan JB, Bonner S, Loxton I, Mader TL, Lisle A, Lawrence R. 2010. Effect of shade on body temperature and performance of feedlot steers. *J Anim Sci*; 88:4056-4067. PMID: 20709874; DOI: 10.2527/jas.2010-2987.

Gutierrez-De La R JH, Warnick AC, Cowley JJ, Hentges J.F. 1971. Environmental physiology in the sub-tropics. Effect of continuous environmental stress on some hematological values of beef cattle. *J Anim Sci*;32(5):968-973. PMID: 15327916; DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.06.005.

Hahn GL. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J Anim Sci* 1999; 77:10-20. PMID: 15526777.

Hansen PJ. 2004. Physiological and cellular adaptation of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci*; 82-83:349-360. PMID: 15271465; DOI: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.011.

IPCC (2007) *Climate Change 2007: Mitigation. Contribution of working group III to the fourth Assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. [(eds) B. Metz, O.R. Davidson, P.R. Bosch, R. Dave, L.A. Meyer]. Chapter 8 Agriculture, pp 498-540. Cambridge University Press.

López EAD, Velásquez LFU, Solarte WN. 2014. Bioquímica sanguínea y concentración plasmática de corticosterona en pollo de engorde bajo estrés calórico. *Rev Med Vet*; 28:31-42. ISSN 0122-9354.

Marai, IFM, Haebe AAM. 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress. *Livest Sci*; 127:89-109. DOI: 10.1016/j.livsci.2009.08.001.

Martínez, Y, Chongo B, Pizarro I, Castillo E. 2001. Una nota acerca de las concentraciones de hormonas tiroideas de toros de ceba que consumieron *Leucaena leucocephala*. *Rev C Sci Agr*;35(4):379-381. DOI: 10.15446/rfmvz.v63n2.59356.

Mitlöhner FM, Gaylean ML, McGlone JJ. 2002. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. *J Anim Sci*; 80(8):2043-2050. DOI: [10.1093/ansci/80.8.2043](https://doi.org/10.1093/ansci/80.8.2043).

Ocak S, Darcan N, Cankaya S, Cinal T. 2009. Physiological and biochemical responses in German Fawn kids subjected to cooling treatments under Mediterranean climate conditions. *Turk J Vet Anim Sci*;33(6):455-461. DOI: 10.3906/vet-0708-3.

Rasooli A, Nouri M, Khadjeh GH, Rasekh A. 2004. The influences of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle. *Iran J Vet Res*; 5(2):1383-1391.

Reece WO. 2006. *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12 edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Research Animal Resources (RAR). 2000. Reference values for laboratory animals. University of Minnesota. www.Ahc.umn.edu/rar/refvalues.html. Accessed November 15, 2017.

Ribeiro LN, Ribeiro NM, Bozzi R, Givisiez ENP, Costa GR. 2014. Physiological and biochemical blood parameters of goats subjected to heat stress. *J Biomed Environment Sci*; 09:29-35. <https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1456439>.

SAS Institute Inc.2004. *SAS/STAT® User's Guide*. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Scharf B, Carroll JA, Riley DG, Chase CC, Coleman SW, Keisler DH, *et al.* 2014. Evaluation of physiological and blood serum differences in heat-tolerant (Romosinuano)

and heat-susceptible (Angus) *Bos taurus* cattle during controlled heat challenge. *J Anim Sci*;88(7):2321-2336. PMID: 20190161; DOI: 10.2527/jas.2009-2551.

Sejian V, Maurya VP, Naqvi SMK. 2010. Adaptive capability as indicated by endocrine and biochemical responses of Malpura ewes subjected to combined stresses (thermal and nutritional) in a semi-arid tropical environment. *Int J Biometeorol*; 54:653-661. PMID: 20607306; DOI: 10.1007/s00484-010-0341-1.

Silanikove N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest Prod Sci*; 67:1-18. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(00\)00162-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(00)00162-7).

Stanger KJ, Ketheesan N, Parker AJ, Coleman CJ, Lazzaroni SM, Fitzpatrick LA . 2005. The effect of transportation on the immune status of *Bos indicus* steers. *J Anim Sci*;83(11):2632-2636. PMID: 16230662; DOI: 10.2527/2005.83112632x.

Sullivan ML, Cawdell-Smith AJ, Mader TL, Gaughan JB. 2011. Effect of shade area on performance and welfare of short-fed feedlot cattle. *J Anim Sci*;89(9):2911-2925. PMID: 21478450; DOI: 10.2527/jas.2010-3152.

The Merck Veterinary Manual. 2018. Hematologic Reference Ranges. <https://www.merckvetmanual.com/appendixes/referenceguides/hematologic-reference-ranges>. Accessed December 10, 2017.

Todini L, Malfatti A, Valbonesi A, Trabalza-Marinucci M, Debenedetti A. 2007. Plasma total T3 and T4 concentrations in goats at different physiological stages, as affected by the energy intake. *Small Ruminant Res*; 68:285-290. ISSN 1657-9550.

Vásquez-Requena ÁG, Sessarego-Dávila EA, Lavallo-Peña GF, Tello-Alarcón VI. 2017. Influencia del sistema de enfriamiento sobre la productividad del ganado bovino lecheros en el valle de Huaura, Perú. *RIVEP*;28 (1):195-200. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i1.12928>.

Wittwer F, Böhmwald H. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. 1era ed. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile;1983.

Wittwer F. 2000. Empleo Estratégico de Indicadores Bioquímicos en el Control de Problemas Metabólicos Nutricionales en Bovinos. En: XIII Reunión Científico Técnica. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Merlo, San Luis, Argentina. Issn 0188789-0

Wood D, Quiroz-Rocha G.F. 2010. Normal hematology of cattle. Douglas JW, Wardrop KJ. Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Ames Iowa, USA: ed Wiley-Blackwell;829-835.

**RELACIÓN MERCURIO-SELENIO (Hg:Se) EN LA GUITARRA
ESPINOSA *Platyrrhinoidis triseriata* Y EN EL GAVILÁN MOTEADO *Aetobatus
laticeps* DEL NORTE DEL PACÍFICO MEXICANO**

Karen Zhulay Salas Garzón¹, Ofelia Escobar Sánchez^{2,3}, Jorge Ricardo Ruelas
Inzunza⁴, Martín Gabriel Frías Espericueta³, Carmen Cristina Osuna Martínez³ y Martín
Federico Soto Jiménez⁵

¹Posgrado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Universidad Autónoma de Sinaloa,
Facultad de Ciencias del Mar. E-mail: k.zhulay.salas.g@gmail.com

²CONACYT, Dirección de Cátedras CONACYT

³Facultad de Ciencias del Mar-UAS

⁴Instituto Tecnológico de Mazatlán

⁵Instituto de Ciencias del Mar y Limnología-UNAM.

RESUMEN

El mercurio (Hg) y el selenio (Se) presentan una relación antagónica que neutraliza la toxicidad del Hg. Ambos elementos se encuentran biodisponibles de manera natural en los océanos y en diversas especies de elasmobranquios y su consumo en elevadas concentraciones pueden ser dañinos para la salud. Sin embargo, se espera encontrar un exceso de Se/Hg en los tejidos de *Platyrrhinoidis triseriata* y en *Aetobatus laticeps* que neutralice la toxicidad de Hg. Para evaluar la biomagnificación de Hg, se analizaron sus presas principales. Las muestras se colectaron en la costa occidental de Baja California Sur a través de un barco de exploración y pesca local. El sexo y la longitud total (L_T) fueron registrados. La extracción de los metales se realizó por digestión ácida y se cuantificaron por espectrofotometría de absorción atómica. La concentración promedio ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso húmedo) de Se en músculo fue de 0.69 ± 0.28 (0.93-4.52) y la de Hg 0.17 ± 0.10 (0.03-0.58). La relación molar Hg:Se fue (<1) y el valor de beneficio a la salud fue de 8.63. Las hembras presentaron las mayores concentraciones de Hg (0.18 ± 0.19) que los machos (0.11 ± 0.12). Las concentraciones promedio ($\mu\text{g g}^{-1}$ con base a peso seco) de Se para *A. laticeps* fueron de 3.31 ± 0.04 (0.50-3.50) y de 1.70 ± 1.47 (0.17-4.65) de Hg. De las presas obtenidas, la langostilla *Pleuoncodes planipes* ($n=13$) fue la más representativa y obtuvo una concentración promedio de 0.02 ± 0.02 . Los valores de Hg encontrados se muestran por debajo del límite máximo permisible en México (NOM-242-SSA1-2009) en peces para el consumo humano.

Palabras clave: Platyrrhinidae, biomagnificación, metal pesado, elemento tóxico, antagonismo

ABSTRACT

Mercury-selenium (Hg:Se) relationship in the thornback guitarfish *Platyrrhinoidis triseriata* and *Aetobatus laticeps* off the western Baja California Sur coast, Mexico: preliminary results

Mercury (Hg) and selenium (Se) have an antagonistic relationship that neutralizes Hg toxicity. Both elements are bioavailable in the ocean and some's fishes like as elasmobranches and his consumption at high concentrations can be harmful to health. We expected to find a high Se/Hg molar ratio in the *Platyrrhoidis triseriata* and *Aetobatus laticeps* tissue that would neutralize Hg toxicity. The main prey of this species were also analyzed to evaluate Hg biomagnification. The samples were collected in the western Baja California Sur off coast through an exploration vessel and local fishing. Sex and total length (T_L) were recorded. Metal extraction was achieved by acid digestion and quantification was performed by atomic absorption spectrophotometry. Average Se ($\mu\text{g g}^{-1}$ wet weight) in muscle was 0.69 ± 0.28 (0.93-4.52) and average Hg was 0.17 ± 0.10 (0.03-1.58). The molar ratio was (<1) and the Selenium health benefit value was 8.63. Females (0.18 ± 0.19) had greater Hg concentrations than males (0.11 ± 0.12). Average Se ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) for *A. laticeps* was 3.31 ± 0.04 (0.50-3.50) and 1.70 ± 1.47 (0.17-4.65) of Hg. The red pelagic crab *Pleuroncodes planipes* ($n=13$) was the most representative of all analyzed prey, with an average Hg concentration of 0.02 ± 0.02 . The Hg values obtained were below the allowed limits for human consumption of fish in Mexico (NOM-242-SSA1-2007).

Key words: Platyrrhoididae, biomagnification, heavy metal, toxic element, antagonist.

INTRODUCCIÓN

El mercurio es un metal pesado cuya toxicidad es altamente preocupante (Kennish, 2001; Burguer y Gochfeld, 2012; Escobar-Sánchez *et al.*, 2014), ya que una vez dentro del organismo provoca diversos daños neurológicos, renales y gastrointestinales (Ralston, 2009; Burguer y Gochfeld, 2012; Ralston *et al.*, 2015). Por otro lado, el selenio es un elemento esencial para el humano (Ralston, 2009), pero que en elevadas concentraciones puede ser tóxico. Ambos elementos tienen una relación antagónica (Ralston *et al.*, 2015), la cual consiste en la neutralización de la toxicidad del mercurio a través del selenio (Drasch *et al.*, 2004). Existe una alta afinidad entre el selenio y el mercurio dentro del organismo y la unión de estos elementos producen un compuesto neutro (seleniuro de mercurio) que reduce la cantidad de selenio disponible para la formación de selenoproteínas (Ralston, 2009; Burguer y Gochfeld, 2012; Ralston *et al.*, 2015). Debido a que el mercurio tiene la capacidad de bioacumularse en las redes tróficas, la ingesta de estos organismos es la principal fuente de mercurio a la población humana. Los elasmobranchios (tiburones y rayas) están dentro de los peces que son ingeridos por la población, principalmente por las comunidades pesqueras en México (Escobar-Sánchez *et al.*, 2014). Dentro del grupo de las rayas (SuperOrden Batoidea), algunas especies capturadas son comercializadas como tiburón o cazón (tiburones con tallas menores a 150cm de longitud), adquiriendo mayor valor comercial. Debido a la actual pesca, consumo y a la escasa información que se tiene de este grupo de peces, el objetivo del presente trabajo es conocer la distribución de Hg y Se en tejidos selectos de la raya guitarra espinosa *Platyrrhoidis triseriata* y en la raya gavián moteado *Aetobatus laticeps* en el Norte del Pacífico mexicano.

HIPÓTESIS

Se espera encontrar un exceso de Se en los tejidos analizados, por lo que se prevé obtener que la relación molar de Hg:Se en *P. triseriata* y en *A. laticeps* sea bajo (<1) tanto en el hígado como en el músculo.

De acuerdo con los tejidos analizados se espera que las concentraciones de Hg (mg kg^{-1} con base en peso seco) sean menores en el músculo que el hígado.

Considerando que los hábitats y hábitos alimenticios para ambas especies son diferentes, se espera que las concentraciones de Hg entre las dos especies sean significativamente diferentes.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la distribución de Hg y Se en tejidos selectos de la guitarra espinosa *Platyrrhinoidis triseriata* y el gavilán moteado *Aetobatus laticeps* en el Norte del Pacífico mexicano.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar las concentraciones de Hg y Se total en tejido muscular y hepático de *Platyrrhinoidis triseriata* y *Aetobatus laticeps* y establecer si las concentraciones están dentro de los límites permisibles para consumo humano (NOM-027-SSA1-1993; NOM-242-SSA1-2009).
- Evaluar las variaciones en las concentraciones de Hg y Se respecto al sexo, longitud total (LT) y ancho de disco (AD).
- Cuantificar las concentraciones de Hg y Se en las presas encontradas en el contenido estomacal de *P. triseriata* y *A. laticeps* y determinar el valor de biomagnificación del Hg y Se.
- Establecer la proporción molar entre Hg y Se para músculos y determinar el valor de beneficio a la salud por Se (HBV_{Se}).
- Estimar la cantidad de músculo de *P. triseriata* y *A. laticeps* que puede consumirse a la semana sin representar un riesgo para la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo de Campo

Las muestras se obtuvieron a partir de la pesca artesanal de la región de Teacapán, Sinaloa; que se realizó a bordo de pangas de 22-23 pies de longitud con un motor fuera de borda operada por 1-3 pescadores usando redes agalleras de fondo con aberturas de malla entre 3.5-6 pulgadas. Mediante este procedimiento se recolectaron 13 organismos de *A. laticeps* (5 machos, 3 hembras y 4 no sexados) durante los meses de enero y marzo de 2018.

Asimismo, se obtuvieron ejemplares provenientes del barco de INAPESCA, el Buque de Investigación Pesquera y Oceanográfica (BIPO), que es una embarcación para investigación de mediana altura, la cual usó un palangre experimental para la captura de

muestras de Pelágicos. De esta embarcación se reunieron 31 organismos de *P. triseriata* (9 machos, 17 hembras y 5 no sexados) y 5 organismos de *A. laticeps* (4 machos y 1 hembra). Los organismos de *P. triseriata* se colectaron durante los muestreos de febrero, junio y agosto de 2015 y julio de 2016 cerca de las costas de Dautillos, Sinaloa; del mismo sitio, pero en abril y agosto de 2015 y Agosto de 2016 se obtuvieron algunas muestras de *A. laticeps* además de obtener otras en noviembre de 2015 en las costas de Teacapán, Sinaloa.

Una vez capturados los organismos, los especímenes de rayas se identificaron y se registró en una bitácora; el lugar, fecha de la recolección, la especie a la que pertenece, la longitud total (de la punta del morro a la punta de la cola) y el sexo, el cual se determinó por la presencia (macho) o ausencia (hembra) del gonopterigio.

Posteriormente se tomaron muestras de hígado y músculo colocándolos individualmente en bolsas de plásticos debidamente cerradas y etiquetadas con los datos anteriormente mencionados. Una vez obtenidos los tejidos se mantuvieron en congelación y/o refrigeración (en el caso de los muestreos con pangas se utilizó una hielera con suficiente hielo para evitar el crecimiento microbiano hasta tener acceso a un congelador a -19°C).

Trabajo de Laboratorio

-Peso húmedo de las muestras: Las muestras congeladas se pesaron en una balanza analítica y se registró en una bitácora para uso futuro. El peso húmedo de las muestras se estimó por la diferencia de peso de las muestras antes y después del proceso de liofilización.

-Liofilización y homogenización: Las muestras congeladas se liofilizaron por 72 horas a 133×10^{-3} mbar de presión y -34°C . Ya liofilizadas, las muestras se molieron en un mortero de ágata, para homogenizar las muestras en un polvo fino. Posteriormente, se procedió a los procesos de predigestión y digestión. El porcentaje promedio de pérdida de humedad para los tejidos de *P. triseriata* fue de 61.81% y 47.91% para músculos e hígados respectivamente.

-Peso seco de las muestras: Una vez terminado el proceso de liofilización, las muestras se pesaron en una balanza analítica, el cual se consideró como peso seco, posteriormente se volvieron a guardar en bolsas bien cerrados, y con el mismo código perteneciente a la muestra preservándolas en un lugar seco hasta su posterior uso.

-Digestión de las muestras: Previo a la digestión, las muestras se sometieron a una predigestión, donde se tomó una muestra (~ 0.25 g) del tejido pulverizado y se colocó en un frasco de teflón (SAVILLLEX) al que se le añadieron 5 ml de ácido nítrico (HNO_3) concentrado grado metal traza (oligometales) marca Baker por un periodo de 10 a 18 hrs. Posteriormente, se realizó la digestión de las muestras, donde se colocaron las muestras predigeridas en una plancha de calentamiento a 120°C durante 3 hrs.

-Análisis de Hg: El análisis de Hg se realizó en un equipo de la marca Buck Scientific 410A, mediante espectrometría de absorción atómica con generación de vapor frío, con una longitud de onda de 253.7 nm.

Previo al análisis de Hg la muestra digerida se transvasó a un frasco de polietileno y se aforó a 25 ml con agua milli-Q. Posteriormente la muestra en solución se colocó en un matraz de boca ancha y se agregó 5 ml de solución ácida (HCl + H₂SO₄ + H₂O), después se aforó a 125 ml con agua milli-Q. 15-20 segundos antes del análisis se añadió 5 ml de cloruro estanoso (SnCl₂) para llevar a cabo la reducción de las formas de Hg contenidas en la muestra a la forma gaseosa de mercurio (Hg⁰). Una vez añadido el cloruro estanoso se agitó 20 s y se midió lo más rápido posible en el equipo. Los resultados son expresados con base peso húmedo.

-Análisis de selenio: Las lecturas del Se fueron realizadas en un espectrofotometro de absorción atómica con horno de grafito y efecto Zeeman, en el equipo AAnalyst 800, Perkin-Elmer en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán (ICMyL-Mazatlán). Se tomaron alícuotas (0.5 ml) de la muestra en viales y se colocaron en la circunferencia horadada dispuesta en el equipo, el análisis de las muestras en el equipo consiste en 3 etapas: secado (a 130°C), calcinado (a 1500°C) y atomizado (a 2500°C). Una vez terminado el proceso de medición se corrige la interferencia que pudo haberse producido y se calcula las concentraciones de Se (ng ml⁻¹) de la muestra.

-Control de calidad de los análisis: Para preservar la calidad en los análisis realizados se utilizaron reactivos ácidos de alta pureza, agua ultrapura Milli-Q con resistividad 18.2 megaohms, recipiente de baño ácido para el material antes y después de su utilización, mortero de ágata para la pulverización y homogenización de las muestras, así como el uso de muestras blancos por lote de muestras y análisis de las muestras por duplicados.

***Blancos y duplicados:** Se corrieron blancos de material de referencia cada 20 muestras y todas las muestras se trabajaron por duplicado.

***Material de referencia:** Paralelamente a la medición de las muestras se usó un material de referencia de tejido de músculo de pescado (DORM-3) del que se obtuvo un porcentaje de recuperación de 119.28% para Hg. Para el material de referencia en tejido de hepático (DOLT-5) los porcentajes de recuperación fueron de 72.67% y 94.37% para Hg y Se respectivamente. Estos porcentajes validan que la medición de las muestras fue correcta y confiable.

-Describir el valor de beneficio a la salud por Se: Se determinó el beneficio a la salud humana del selenio (HBV_{Se}) mediante la ecuación propuesta por Ralston *et al.* (2015). En la que se empleó y se calculó la proporción molar Hg:Se. $HBV_{Se} = \left(\frac{[Se - Hg]}{Se} \right) * (Se + Hg)$

-Evaluación toxicológica de Hg: La evaluación toxicológica se calculará mediante el Consumo Máximo Semanal por Persona (CMPS) con la siguiente ecuación:

$$CMPS = \frac{ESTP}{[THg]}$$

Dónde: ESTP: es la Entrada Semanal Tolerable Permissible (que es de 4.0 μg semana⁻¹ por Kg⁻¹ y de 2.45 μg semana⁻¹ Kg⁻¹ por peso corporal para niños y mujeres embarazadas o en lactancia) y THgj: es el promedio de la concentración de Hg total en la porción comestible. Para el Hg total, el valor de CMPS se expresa en gramos de pescado por persona (Kg peso corporal) a la semana (μg semana⁻¹ por Kg⁻¹ peso corporal).

-Análisis de datos: Se realizaron análisis estadísticos descriptivos de los resultados obtenidos: media, desviación estándar, concentraciones máximas y mínimas. Para comprobar si existe una relación positiva y diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones de Hg respecto al sexo, longitud total y Se, se realizaron pruebas no paramétricas (Mann-Whitney y Spearman), ya que los datos no cumplieron con los supuestos estadísticos básicos de normalidad (Lilliefors) y homocedasticidad de datos (Barlett). Para el análisis de los datos se utilizaron los paquetes estadísticos PAST 2010 y StatSoft-Statistica 10.0, 2011 Enterprice.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Para *Platyrrhinoideis triseriata* las tallas oscilaron entre los 30.9 y 53 cm de L_T (43.1 ± 6.3 cm) y la concentración promedio (0.17 ± 0.10 μg de Hg g⁻¹) de Hg en el tejido hepático es menor que la del tejido muscular (0.16 ± 0.16 μg de Hg g⁻¹). Este comportamiento se ha observado en estudios como en el de Escobar-Sánchez *et al.* (2013) y Ruelas-Inzunza *et al.* (2013) en rayas bentónicas y pelágicas. Las concentraciones de Hg no variaron significativamente ($p > 0.05$) con respecto a la talla de la especie, pero existen estudios (Escobar-Sánchez *et al.*, 2013; Ruelas-Inzunza *et al.*, 2013; Murillo- Cisneros 2014) donde esta relación ha sido significativamente positiva. En el tejido muscular las hembras presentaron mayores concentraciones de Hg (0.18 ± 0.19 μg de Hg g⁻¹) que los machos (0.11 ± 0.12 μg de Hg g⁻¹). Estos valores no superan la normatividad mexicana, pero si hubo dos organismos que lo sobrepasaron (0.58 y 0.51 μg de Hg g⁻¹). Se ha observado en algunos estudios (Escobar-Sánchez *et al.*, 2014) que algunas especies bentopelágicas de las familias las Mobulidae y Rhinopteridae los niveles de Hg no sobrepasan los límites establecidos en las normas, mientras que, en algunas especies bentónicas (como *P. productus*, *Urolophus halleri* y *Dasyastis longa*) los niveles de Hg representan un riesgo a la salud (Ruelas-Inzunza *et al.*, 2013). Comportamientos que se atribuyen al alimento que consumen y al área de pesca donde son capturadas, por ejemplo, Murillo- Cisneros (2014) reportó que para *P. productus* capturada en el alto Golfo no presentó valores de Hg que incumplan con las normas mexicanas.

La mayor bioacumulación de Se en *P. triseriata* se reflejó en el tejido hepático (1.57 ± 0.67 μg de Se g⁻¹) y no en el tejido muscular (0.69 ± 0.28 μg de Se g⁻¹), además, se encontró que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) de las concentraciones de Se entre los tejidos. En el tejido comestible las hembras (0.76 ± 0.29 μg de Se g⁻¹) presentaron mayores concentraciones de Se que los machos (0.57 ± 0.27 μg de Se g⁻¹). De acuerdo con los análisis estadísticos existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones de Se de músculo e hígado de ambos sexos. Sin embargo, las concentraciones de Se no son tan altas como lo reportado en otras rayas. Por ejemplo Murillo-Cisneros (2014) reporta 4.93 ± 1.46 p.s para *Pseudobatus productus* y no reporta

relaciones significativas entre el Se y la LT, para este estudio las concentraciones de Se muestran una ligera tendencia a bioacumularse más a mayor talla, esta correlación es muy baja pero significativa solo en el músculo no en hígados.

Hasta el momento para *Aetobatus laticeps*, se obtuvieron 18 organismos (12 hígados y 16 músculos) y hasta el momento se identificaron 8 machos y 4 hembras. Las tallas oscilaron entre 49.0 y 139.0 cm de AD (89.4 ± 16.8 cm). El tejido muscular presentó las mayores concentraciones de Hg (1.70 ± 1.47 μg de Hg g^{-1} p.s) que el tejido hepático (0.47 ± 0.37 μg de Hg g^{-1} p.s). Con relación al sexo, los machos presentaron mayores concentraciones de Hg que las hembras en el tejido muscular (2.05 ± 1.29 y 1.77 ± 1.97 μg de Hg g^{-1} p.s, respectivamente), pero las hembras presentaron mayores concentraciones de Hg en el tejido hepático que los machos (0.70 ± 0.56 μg y 0.31 ± 0.20 de Hg g^{-1} p.s, respectivamente).

En el contenido estomacal de *P. triseriata* se obtuvieron principalmente crustáceos como la langostilla, *Pleuroncodes planipes* (N=12) y el camarón, *Penaeus* spp. (N= 1). La cuantificación de Hg en estos fue de 0.02 ± 0.02 μg de Hg g^{-1} y de 0.07 μg de Hg g^{-1} , respectivamente y la de Se fue de 0.56 ± 0.33 μg de Se g^{-1} y 0.70 μg de Se g^{-1} , respectivamente. En cuanto a *A. laticeps*, en el contenido estomacal se registraron moluscos bivalvos (N=1) cuyas concentraciones de Hg y Se fueron 2.88 μg de Hg g^{-1} y 0.74 μg de Se g^{-1} . De acuerdo con Fisher *et al.* (1995) y Last *et al.* (2016) las rayas bentónicas como *P. triseriata* se alimentan de crustáceos pequeños asociados al fondo marino. El consumo de grandes cantidades de crustáceos puede transferir altas concentraciones de Hg al depredador, Escobar-Sánchez *et al.* (2011) reporta que el tiburón azul (*Prionace glauca*) presentó mayor transferencia de Hg por *P. planipes*.

La relación molar Hg:Se que resultó fue de $0.088 < 1$, es decir que la cantidad de Se disponible es mayor que la de Hg. Murillo- Cisneros (2014) reportó valores similares (< 1) de Hg:Se para una especie de raya similar (*P. productus*). El Valor de beneficio a la Salud (HBV_{Se}) fue de 8.63, de acuerdo con Kaneko y Ralston (2015), los valores positivos indican que la cantidad de Se presente en el pez es superior a la cantidad de Hg, lo que sugiere menores riesgos para la salud por las exposiciones de mercurio y un efecto protector del Se ante los efectos tóxicos del Hg si este tejido se consume.

Con base a la concentración máxima de Hg obtenida de las muestras de tejido muscular de *P. triseriata* se determinó que el consumo máximo de pescado por semana para esta especie debe ser menor de 483 g para hombres y 253 g para mujeres y no mayor de 68 g para niños de 16 kg. Estos valores semanales son menores a los reportados en el trabajo de Murillo-Cisneros en 2014 para *P. productus* de 5.8 kg por semana para hombres 5 kg para mujeres y 1/2 kg para niños

CONCLUSIONES

La mayor distribución de Se y Hg en organismos batoideos de tamaños chicos (de L_T menores a medio metro) y asociados al bento, se pueden encontrar en el tejido hepático. Aunque no se encontró una relación positiva significativa con la talla; las concentraciones de metales pueden ser mayores cuando los organismos son adultos, para aseverar esto

se deben realizar biomonitoreos de organismos adultos de mayor talla (90 cm). Para especies pelágicas de tallas mayores (de AD mayor a 1.30 m) las mayores distribuciones de Se se pueden encontrar en el tejido muscular, sin embargo, los niveles de Hg pueden ser mayores también.

El contenido de Se encontrado en las especies de estas regiones puede beneficiar al ser humano de los posibles efectos tóxicos de Hg, pero debe restringirse la cantidad de pescado consumido cuando se desconozca la proveniencia y la especie que se consume.

LITERATURA CITADA

Burger J. y Gochfeld M. 2012. Selenium and mercury molar ratios in saltwater fish from New Jersey: Individual and species variability complicate use in human health fish consumption advisories. *National Institutes of Health*. 114: 12-23.

Drasch G., Horvat M. y Stoepler M. 2004. Elements and their compounds in the Environment. Editorial Board. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. República Federal de Alemania, Europa. pp: 931-1005.

Escobar-Sánchez O., Ruelas-Inzunza J., Patrón-Gómez J.C. y Corro-Espinosa D. 2013. Mercury levels in myliobatid stingrays (Batoidea) from the Gulf of California: tissue distribution and health risk assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*. 186:1931-1937.

Kennish M.J. 2001. *Practical Handbook of Marine Science*. Editorial CRC marine science series, New York Washington, D.C. pp: 630-631.

Murillo-Cisneros, D.A., 2014. Bioacumulación de mercurio, selenio y cadmio en rayas del alto Golfo de California y Costa Occidental de Baja California Sur. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B. C. S., México 59 p.

Ralston N.V.C. 2009. Selenium health benefit values as seafood criteria. *EcoHealth* 5: 442-455

Ralston N.V.C., Ralston C.R. y Raymond L.J. 2015. Selenium health benefit values updated criteria for mercury risk Assessments. *Biological Trace Element Research*. 171:262-269.

Ruelas-Inzunza J.R., Escobar-Sánchez O., Patrón-Gómez J., Moreno-Sánchez X.G., Murillo-Olmeda A., Spanopoulos-Hernández M. y Corro-Espinosa D. 2013. Mercury in muscle and liver of ten ray species from Northwest Mexico. *Marine Pollution Bulletin*. 77(1-2):434-436.

IDENTIFICACIÓN DE RESISTENCIA A *Bemisia tabaci* EN GENOTIPOS SILVESTRES Y CRIOLLOS DE *Solanum* spp. EN MÉXICO.

Jonathan Misael Lugo-Lujan¹, José Antonio Garzón-Tiznado^{2*}, Jesús Enrique Retes-Manjarrez^{3**}, Raymundo Medina-López^{4***}, Jesús Portillo-Loera^{5***}, Sixto Velarde-Félix^{6***}

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias Facultad de Agronomía – UAS, lugo-jonathan@hotmail.com. ²Facultad Ciencias Químico Biológicas.- UAS. ³Vilmorin de México. ⁴Facultad de Agronomía-UAS. ⁵Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia-UAS. ⁶INIFAP. *Director, **Codirector, ***Asesores.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue identificar nuevas fuentes de resistencia que sean no preferidos por *Bemisia tabaci* (Bt) ya que se es conocido que la antixenosis es un carácter de defensa preventivo a la infestación de este insecto. Para esto, se hicieron dos ensayos para buscar antixenosis a Bt en 22 poblaciones de tomates silvestres y criollos de México. Las plantas fueron infestadas masivamente a través de la liberación de Bt con una población de 100 insectos por planta de manera homogénea y posteriormente se contabilizó el número de adultos a los 3 días post infestación (dpi) y el número de huevecillos a los 5 dpi. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro bloques con cinco repeticiones de una planta. El genotipo 19 mostró significativamente el menor número de adultos/planta seguido de los genotipos 18, 2, 23, 30, 17, 13, 1, con un promedio de 0.0, 3.0, 13.5, 21.2, 23.1, 23.8, 24.3 y 25.1 respectivamente. Los genotipos 19, 18, 9, 2, 7, 10, 30, 1, 16, 15, 8, 23, 22, 14 y 6 mostraron significativamente el menor número promedio de huevecillos/planta con 0.0, 1.3, 5.1, 6.0, 7.2, 9.8, 10.0, 12.8, 14.0, 14.2, 14.8, 15.6, 16.2, 18.0 y 18.3, respectivamente, en comparación del control susceptible que tuvo en promedio 147.3 huevecillos/planta. Estos resultados indican que estos genotipos son menos preferidos para la infestación y oviposición de Bt lo cual puede ser utilizado para el desarrollo de cultivares de tomate con este carácter de resistencia a este insecto.

ABSTRACT

The objective of this study was to identify new sources of resistance that are not preferred by *Bemisia tabaci* (Bt) being that it is known that the antixenosis is a preventive defense character to the infestation of this insect. For this, two trials were made to look for antixenosis to Bt in 22 populations of wild and criollo tomatoes from Mexico. The plants were massively infested through the release of Bt with a population of 100 insects per plant in a homogeneous manner and subsequently the number of adults was counted at 3 days post infestation (dpi) and the number of eggs at 5 dpi. A completely randomized block design was used with four blocks with five repetitions of a plant. Genotype 19 showed significantly the lowest number of adults/plant followed by genotypes 18, 2, 23, 30, 17, 13, 1, with an average of 0.0, 3.0, 13.5, 21.2, 23.1, 23.8, 24.3 and 25.1 respectively. Genotypes 19, 18, 9, 2, 7, 10, 30, 1, 16, 15, 8, 23, 22, 14 and 6 showed significantly the lowest average number of eggs/plant with 0.0, 1.3, 5.1, 6.0, 7.2, 9.8, 10.0, 12.8, 14.0, 14.2, 14.8, 15.6, 16.2, 18.0 and 18.3, respectively, compared to the susceptible control that had

on average 147.3 eggs/plant. These results indicate that these genotypes are less preferred for the infestation and oviposition of Bt which can be used for the development of tomato cultivars with this character of resistance to this insect.

Palabras clave: *Bemisia tabaci*, antixenosis, fuente de resistencia, tomate silvestre.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L) es uno de los más importantes económicamente a nivel mundial, en México y en Sinaloa (SAGARPA, 2016; FAO, 2017). El principal productor de México es Sinaloa, con 551 mil t, aportando el 20% del volumen nacional (SAGARPA, 2017).

El tomate tiene diversas limitantes tanto bióticas como abióticas. Una de las principales limitantes de este cultivo en México y a nivel global es la mosca blanca (*Bemisia tabaci*) (Oliveira *et al.*, 2001). Este insecto ocasiona daños indirectos por la transmisión de virus fitopatógenos y directos causados por su alimentación (Oliveira *et al.*, 2001; De Sena *et al.*, 2011). De un total de ~1200 especies descritas de moscas blancas (Martin *et al.*, 2000), *Bemisia tabaci* es la más ampliamente distribuida alrededor del mundo. Este insecto polífago tiene la capacidad de transmitir más de 100 virus fitopatógenos a través de la alimentación directa en sus hospederos (Jones, 2003; McKenzie *et al.*, 2014). En las últimas décadas y en la actualidad, el control de *B. tabaci* siempre se ha basado principalmente en el control químico (Baldin *et al.*, 2013; Cruz *et al.*, 2014). Este es hasta cierto punto funcional ya que *B. tabaci* tiene la capacidad de desarrollar resistencia a los insecticidas rápidamente (McKenzie *et al.*, 2014). Un claro ejemplo es el trabajo realizado por Elbert y Nauen (2000) en el cual encontraron poblaciones de dicho insecto resistentes a diferentes insecticidas. Una alternativa efectiva, no biopeligrosa y la cual es componente del manejo integrado de plagas es el desarrollo de cultivares resistentes para este insecto (Oliveira, 2001; Oriani y Vendramim, 2010; De Sena *et al.*, 2011; Oriani *et al.*, 2011). Sin embargo, a la fecha no existen cultivares comerciales resistentes a ésta plaga (Escobar-Bravo *et al.*, 2016).

El primer paso para el desarrollo de cultivares resistentes a plagas y enfermedades es el escrutinio de genotipos resistentes domesticados o silvestres, para después ser usados en los programas de mejoramiento genético de cultivos agrícolas (Pickersgill, 1997). Se ha informado que los parientes silvestres de las plantas cultivadas son fuente de genes de resistencia a plagas y enfermedades (Hernández-Verdugo *et al.*, 1998). Algunos estudios muestran resultados positivos de resistencia a mosca blanca en tomate. Al respecto, Rodríguez-López *et al.* (2011) y Escobar-Bravo *et al.* (2016), observaron que la presencia de los tricomas glandulares tipo IV y la producción de acilsacarosa son características que proporcionan resistencia, impidiendo la llegada y establecimiento de la mosca blanca en las plantas de tomate. Sin embargo, como muestra Escobar-Bravo *et al.* (2016) los genes relacionados con la producción de acilsacarosa que es lo que confiere la resistencia de la planta contra el insecto, no se expresan en las primeras etapas de desarrollo de la planta. Al igual Nombela *et al.* (2003) sugiere que la expresión del gen Mi-1.2 que confiere resistencia en contra de *B. tabaci* puede estar relacionado con el desarrollo de la planta o con la temperatura por lo que puede perderse dicha resistencia y no ser estable.

Por lo tanto el objetivo de este estudio será identificar fuentes de resistencia a *Bemisia tabaci* en poblaciones silvestres y criollas de *Solanum spp.* de México.

HIPÓTESIS

Existen diferentes fuentes de resistencia a *Bemisia tabaci* en los genotipos criollos y silvestres de *Solanum spp.* de México.

OBJETIVO GENERAL

Identificar fuentes de resistencia a *Bemisia tabaci* en genotipos criollos y silvestres de *Solanum spp.*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.-Desarrollar un método de inoculación con *Bemisia tabaci* en plantas de tomate.
- 2.-Generar un banco de germoplasma.
- 3.-Analizar la resistencia en los diferentes genotipos de *Solanum spp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron frutos de diez plantas de cada una de las 22 poblaciones de tomates criollos y silvestres utilizadas en este estudio durante la temporada otoño-invierno del año 2015 en los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas (Cuadro 1). El cultivar Bonny Best se utilizó como control susceptible. Las semillas se germinaron en charolas de poliestireno de 200 cavidades, utilizando turba (peat moss) y vermiculita como sustrato a una proporción 5:1 en invernadero. Las charolas ya sembradas se colocaron en una cámara de germinación con una temperatura promedio de 32 ± 2 °C.

Fuente de insectos

Se colectaron manualmente adultos de mosca blanca con un succionador entomológico en un cultivo de calabaza en condiciones de campo abierto ubicado en la comunidad de Bella Vista perteneciente a la ciudad de Culiacán Sinaloa.

Ensayo de resistencia

En este estudio se hicieron dos ensayos de resistencia a *B. tabaci*. El primer ensayo se hizo en septiembre de 2017. Se utilizó el método de infestación de libre elección de los insectos el cual consistió en liberar 100 adultos de *Bemisia tabaci* (Toscano *et al.*, 2002a) por planta a infestar de acuerdo con la metodología utilizada por Toscano *et al.*, 2002b con ligeras modificaciones. Se establecieron las plantas de tomate directamente en el suelo en surcos de 25 m de largo y 1.30 m entre surcos, con una separación entre plantas de 0.25 m. Se infestaron 20 plantas de cada genotipo y cada planta se consideró como

una repetición. La infestación se realizó a los 30 días después de la siembra utilizando 100 adultos por planta. Los insectos se liberaron dispersándolos manualmente de una forma homogénea a las plantas del ensayo. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro bloques. Cada bloque tuvo cinco repeticiones de una planta. Para analizar la resistencia al insecto se midieron las siguientes variables: número de adultos por planta y número de huevecillos por tres hojas/planta. Se contabilizaron adultos a los 3 días posteriores a la infestación girando cuidadosamente las hojas de las plantas y tomando los datos de adultos presentes en el envés (Rakha *et al.*, 2017)., esto en un horario de 6:00 am a 8:00 am que es cuando se encuentran más inactivos dichos insectos (Sánchez-Peña *et al.*, 2006). El número de huevecillos se contó a los 5 días posteriores a la infestación con ayuda de un microscopio estereoscópico (50X) tomando como muestra tres hojas al azar de la mitad superior de la planta. Estudios previos indican que en la mitad superior de la planta de tomate, los adultos de mosca blanca prefieren ovipositar en los folíolos medios y apicales de las hojas (Toscano *et al.*, 2002a). El segundo ensayo se realizó en septiembre del 2018, utilizando la misma metodología, número de plantas y diseño experimental utilizado en el primer ensayo. Ambos experimentos se establecieron bajo condiciones de invernadero y a temperatura ambiente en la localidad de Culiacancito perteneciente a la ciudad de Culiacán, Sinaloa.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron a través de la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov y homogeneidad de varianzas de Levene. Después se hizo su respectivo análisis de varianza con la prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias entre tratamientos. Posteriormente se realizó una prueba de medianas de Mood. Por último se hizo una correlación de Spearman entre el número de adultos por planta y el número de huevecillos. Todos los análisis fueron desarrollados utilizando el paquete estadístico Minitab® 2017.

RESULTADOS

Identificación del insecto

El análisis de PCR mostró que los insectos utilizados en la infestación de los diferentes genotipos son *Bemisia tabaci* biotipo Q.

Ensayos de resistencia

No hubo diferencia significativa entre el número de adultos ($H = 3.08$, $GL = 1$, $P = 0.079$) y huevecillos ($H = 2.26$, $GL = 1$, $P = 0.133$) por planta entre los ensayos 1 y 2 y por tanto, los datos de estos dos ensayos fueron considerados como uno sólo.

Los tres grupos de genotipos (silvestres, criollos y comerciales) tuvieron presencia de adultos durante el experimento. Sin embargo, hubo diferencia significativa en el número de adultos de mosca blanca por planta entre grupos ($H = 17.91$, $GL = 2$, $P = 0.001$) (Fig. 2).

Analizando los resultados de este estudio por grupos, el grupo de los genotipos criollos fue el que mostró significativamente menor preferencia de adultos con un promedio de 30.4 insectos por planta, en comparación con el grupo de genotipos silvestres y comerciales que tuvieron mayor preferencia con un promedio de 50.0 y 70.4 moscas blancas, respectivamente (Figura 2).

Respecto al número de huevecillos por planta, todos los grupos mostraron oviposición de *Bemisia tabaci*, aunque la cantidad de estos huevecillos varió significativamente entre grupos ($H= 33.10$, $GL = 2$, $P= 0.001$) (Fig 3). El grupo de los genotipos criollos y silvestres tuvieron significativamente un menor número de huevecillos por planta con un promedio de 26.2 y 16.8, respectivamente, en comparación con el cultivar comercial que tuvo una media de huevecillos de 133.9 (Figura 2).

Por otra parte, analizando la antixenosis de *B. tabaci* en los genotipos individualmente, no todos tuvieron presencia de este insecto y hubo diferencia significativa entre los tratamientos en el número de adultos por planta ($H= 140.48$, $GL= 22$, $P= 0.001$) (cuadro 2). El genotipo que mostró significativamente menor preferencia para este insecto fue el número 19 seguido por los genotipos 18, 2, 23, 30, 17, 13, 1, con un promedio de adultos por planta de 0.0, 3.0, 13.5, 21.2, 23.1, 23.8, 24.3 y 25.1 respectivamente, en comparación con el resto de los tratamientos (tabla 2). Por otra parte, los genotipos 21, 12, 15, 22, 16 y 20 mostraron una incidencia de adultos significativamente menor que el control susceptible con una media de adultos por planta de 28.8, 30.3, 32.4, 34.9, 38.7 y 40.8, respectivamente. El resto de los tratamientos tuvieron un promedio de 75.0 insectos por planta y no fueron significativamente diferentes con el control comercial que tuvo un promedio de 70.4 adultos por planta (cuadro 2).

Respecto al número de huevecillos por planta por genotipo, no todos los tratamientos tuvieron la misma preferencia de oviposición de *B. tabaci*, aunque hubo diferencia significativa entre genotipos para esta variable ($H = 79.52$, $GL = 22$, $P = 0.001$) (cuadro 2). Los genotipos 19, 18, 9, 2, 7, 10, 30, 1, 16, 15, 8, 23, 22, 14 y 6 mostraron significativamente el menor número promedio de huevecillos con 0.0, 5.1, 6.0, 7.2, 9.8, 10.0, 12.8, 14.0, 14.2, 14.8, 15.6, 16.2, 18.0 y 18.3 seguido de los números 5, 13, 17, 12, 20 y 21 que tuvieron una media de huevecillos de 18.9, 19.8, 21.2, 25.3, 46.4 y 62.2, respectivamente, en comparación con los genotipos 11 y 3 que tuvieron un promedio de alrededor de 147.3 huevecillos por planta (Tabla 2).

En base a los conteos que se hicieron al quinto día después de la infestación, el número de adultos y huevecillos por planta tuvieron un rango de 0.0 y 0.0 hasta 100.7 y 160.7, respectivamente, en los ensayos de preferencia a *B. tabaci* (Tabla1). Por otra parte, el número de adultos por planta se correlacionó positiva y significativamente con el número de huevecillos por planta en los genotipos estudiados ($r = 0.385$, $P = 0.001$).

CONCLUSIONES

Se concluye que la metodología fue óptima para seleccionar genotipos con resistencia tipo antixenosis debido a que el control susceptible fue altamente infestado. Ambos estudios realizados indican que los genotipos 19, 18 y 2 son fuentes de resistencia prometedoras para el desarrollo de cultivares de tomate con resistencia por no preferencia.

LITERATURA CITADA

- Baldin E. L., Crotti A. E., Wakabayashi K. A., Silva J. P., Aguiar G. P., Souza E. S., Veneziani R. C., Groppo M. 2013. Plant-derived essential oils affecting settlement and oviposition of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B on tomato. *Journal of pest science*, 86, 301-308. ISSN: 16124758; DOI: doi.org/10.1007/s10340-012-0462-x
- Cruz P. L., Baldin E. L., De Jesús P. M. 2014. Characterization of antibiosis to the silverleaf whitefly *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) in cowpea entries. *Journal of pest science*, 87, 639-645. ISSN: 16124758; DOI: doi.org/10.1007/s10340-014-0612-4
- Czosnek H., Kheyr-Pour A., Gronenborn B., Remetz E., Zeidan M., Altman A., Rabinowitch H., Vidavsky S., Kedar N., Gafni, Y. 1993. Replication of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) DNA in agroinoculated leaf discs from selected tomato genotypes. *Plant molecular biology*, 22, 995-1005. ISSN: 01674412; DOI: dx.doi.org/10.1007/BF00028972
- Elbert A., Nauen R. 2000. Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest management science*, 56, 60-64. ISSN: 1526-4998; DOI: doi.org/10.1002/
- De Sena F. E., Henriques Da Silva D. J., Picanço M. C., Fernandes F. L., Jham G. N., Souza P. C. 2011. Resistance of tomato subsamples to biotype B (Genn.)(Hemiptera: Aleyrodidae). *Agronomy journal*, 103, 1849-1861. ISSN: 00021962; DOI: doi.org/10.2134/agronj2011.0049
- Escobar-Bravo R., Alba J. M., Pons C., Granell A., Kant M. R., Moriones E., Fernández-Muñoz R. 2016. A jasmonate-inducible defense trait transferred from wild into cultivated tomato establishes increased whitefly resistance and reduced viral disease incidence. *Frontiers in plant science*, 7. ISSN: 1664462X DOI: doi.org/10.3389/fpls.2016.01732
- FAOSTAT. 2016. Datos por cultivo. www.fao.org/faostat (Consulta, noviembre 2017).
- Hernández-Verdugo S., Guevara-González R. G., Rivera-Bustamante R. F., Vázquez-Yanes C., Oyama K. 1998. Wild relatives of Chile (*Capsicum* spp.) as genetic resources. *Botanical Sciences*, 171-181. ISSN: 2007-4476. DOI: dx.doi.org/10.17129/botsci.1559
- Jones D. R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 195-219. ISSN: 0929-1873; DOI: doi.org/10.1023/A:102284663
- Martin J., Mifsud D., Rapisarda C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean basin. *Bulletin of entomological research*, 90, 407-448. ISSN: 00074853; DOI: doi.org/10.1017/S0007485300000547

- Mckenzie C. L., Kumar V., Palmer C. L., Oetting R. D., Osborne L. S. 2014. Chemical class rotations for control of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) on poinsettia and their effect on cryptic species population composition. *Pest management science*, 70, 1573-1587. DOI: doi.org/10.1002/ps.3736
- Nombela G., Williamson V. M., Muñoz M. 2003. The root-knot nematode resistance gene Mi-1.2 of tomato is responsible for resistance against the whitefly *Bemisia tabaci*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16, 645-649. ISSN: 0894-0282; DOI: doi.org/10.1094/MPMI.2003.16.7.645
- Oliveira M., Henneberry T., Anderson P. 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 20, 709-723. ISSN: 02612194; DOI: doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00108-9
- Oriani M. A. D. G., Vendramim J. D. 2010. Influence of trichomes on attractiveness and ovipositional preference of *Bemisia tabaci* (Genn.) B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) on tomato genotypes. *Neotropical Entomology*, 39, 1002-1007. ISSN: 1519566X; DOI: doi.org/10.1590/S1519-566X2010000600024
- Oriani M. A. D. G., Vendramim J. D., Vasconcelos C. J. 2011. Biology of *Bemisia tabaci* (Genn.) B biotype (Hemiptera, Aleyrodidae) on tomato genotypes. *Scientia Agricola*, 68, 37-41. ISSN: 01039016; DOI: doi.org/10.1590/S0103-90162011000100006
- Pickersgill B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, 96, 129-133. ISSN: 0014-2336; DOI: doi.org/10.1023/A:1002913228101
- Rodríguez-López M., Garzo E., Bonani J., Fereres A., Fernández-Muñoz R., Moriones E. 2011. Whitefly resistance traits derived from the wild tomato *Solanum pimpinellifolium* affect the preference and feeding behavior of *Bemisia tabaci* and reduce the spread of Tomato yellow leaf curl virus. *Phytopathology*, 101, 1191-1201. ISSN: 0031-949X; DOI: doi.org/10.1094/PHYTO-01-11-0028
- SAGARPA. 2016. Boletines- Exportaciones de tomate aumentan 22.7 por ciento en cinco meses. www.sagarpa.gob.mx (Consulta, noviembre 2017).
- SAGARPA. 2017. Boletines- Aumenta 35 por ciento producción de jitomate "Hecho en México. www.sagarpa.gob.mx (Consulta, noviembre 2017).
- Sánchez-Peña P., Oyama K., Núñez-Farfán J., Fornoni J., Hernández-Verdugo S., Márquez-Guzmán J., Garzón-Tiznado J. A. 2006. Sources of resistance to whitefly (*Bemisia* spp.) in wild populations of *Solanum lycopersicum* var. cerasiforme (Dunal) spooner GJ Anderson et RK Jansen in Northwestern Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 711-719. ISSN: 0925-9864; DOI: doi.org/10.1007/s10722-004-3943-9

Toscano L. C., Boiça JR., A. L., Maruyama W. I. 2002. Nonpreference of whitefly for oviposition in tomato genotypes. *Scientia Agricola*, 59, 677-681. ISSN: 01039016; DOI: doi.org/10.1590/S0103-90162002000400009

Cuadro 1. Localización geográfica de diferentes genotipos de *Solanum lycopersicum* colectados en México.

Genotipos	Origen	Localización		Altitud m.s.n.m
		Lat. N	Long. Ó	
1	Silvestre	16°51'46"	99°53'13"	30
2	Silvestre	17°57'22"	102°11'32"	10
3	Silvestre	19°38'38"	102°02'54"	2228
5	Silvestre	18°55'00"	103°53'00"	33
6	Silvestre	19°15'00"	104°34'00"	29
7	Silvestre	20°39'00"	102°48'00"	161
8	Silvestre	20°52'10"	105°26'27"	2
9	Silvestre	22°23'50"	105°27'26"	8
10	Silvestre	21°32'23"	105°17'08"	10
11	Comercial	24°48'15"	107°25'52"	124
12	Criollo	17°33'05"	99°30'03"	1242
13	Criollo	24°48'15"	107°25'52"	124
14	Silvestre	17°30'33"	91°58'56"	60
15	Criollo	16°30'42"	96°58'46"	3000
16	Criollo	15°51'43"	97°04'18"	60
17	Criollo	16°52'00"	96°47'00"	2447
18	Silvestre	15°26'00"	92°07'00"	927
19	Silvestre	16°06'58"	92°41'20"	187
20	Criollo	24°48'15"	107°25'52"	124
21	Criollo	24°48'15"	107°25'52"	124
22	Silvestre	23°17'00"	106°04'00"	120
23	Silvestre	24°48'00"	107°23'00"	100
30	Silvestre	19°24'00"	102°08'00"	1740

Cuadro 2. Promedio de adultos y huevos de *Bemisia tabaci* biotipo Q presentes en plantas silvestres y criollas de tomate.

Genotipo	Adultos/planta	Genotipo	Huevos/planta
3	100.7 A	3	160.7 A
7	92.6 A	11	133.9 A
8	85.7 A	21	62.2 B
10	75.9 AB	20	46.4 BC
6	72.3 ABC	12	25.3 CD
11	70.4 ABC	17	21.2 CD
5	51.3 BCD	13	19.8 CD
14	49.3 CD	5	18.9 CD
9	49.2 CD	6	18.3 D
20	40.8 DE	14	18.0 CD
16	38.7 DE	22	16.2 D
22	34.9 DEF	23	15.6 D
15	32.4 DEFG	8	14.8 D
12	30.3 DEFG	15	14.2 D
21	28.8 DEFGH	16	14.0 D
1	25.1 DEFGHI	1	12.8 D
13	24.3 DEFGHI	30	10.0 D
17	23.8 EFGHI	10	9.8 D
30	23.1 EFGHI	7	7.2 D
23	21.2 EFGHI	2	6.0 D
2	13.5 FGHI	9	5.1 D
18	3.0 GHI	18	1.3 D
19	0.0 I	19	0.0 D

Promedios que no comparten una misma letra por columna, son significativamente diferentes.

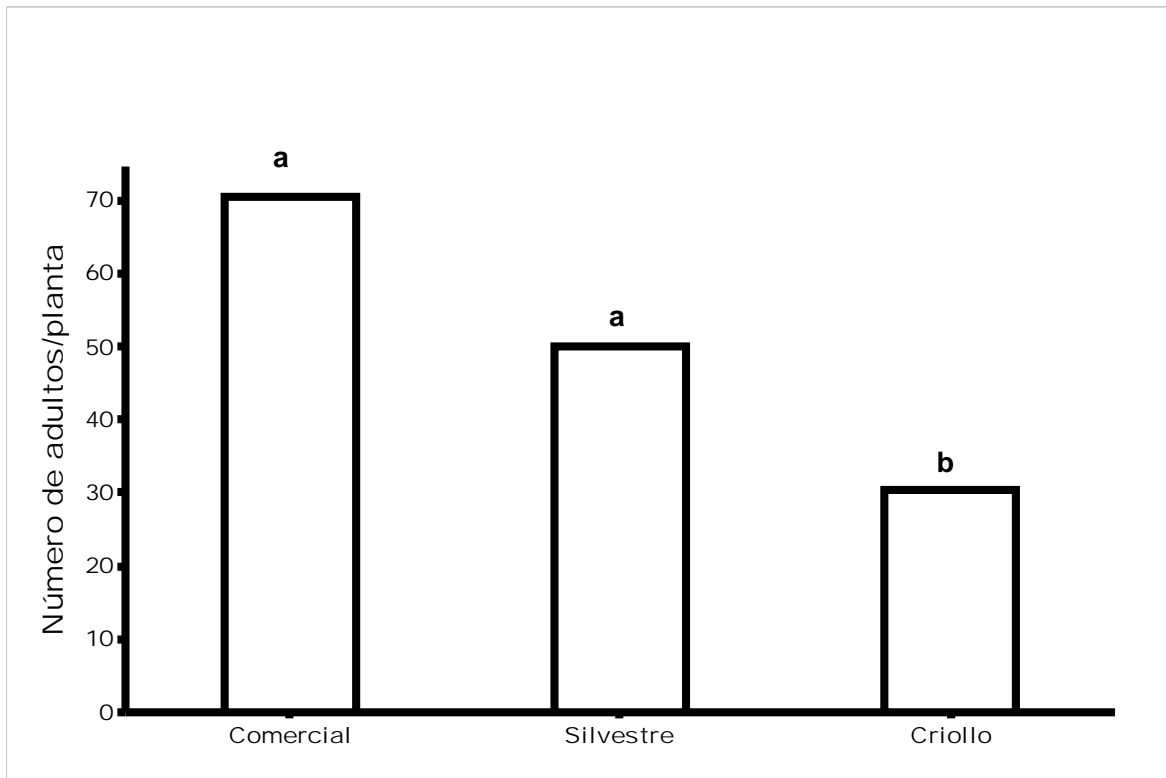


Fig. 2. Medias de adultos de *B. tabaci* en grupos silvestres, criollos y comerciales de *Solanum lycopersicum* utilizados en el ensayo de libre elección.

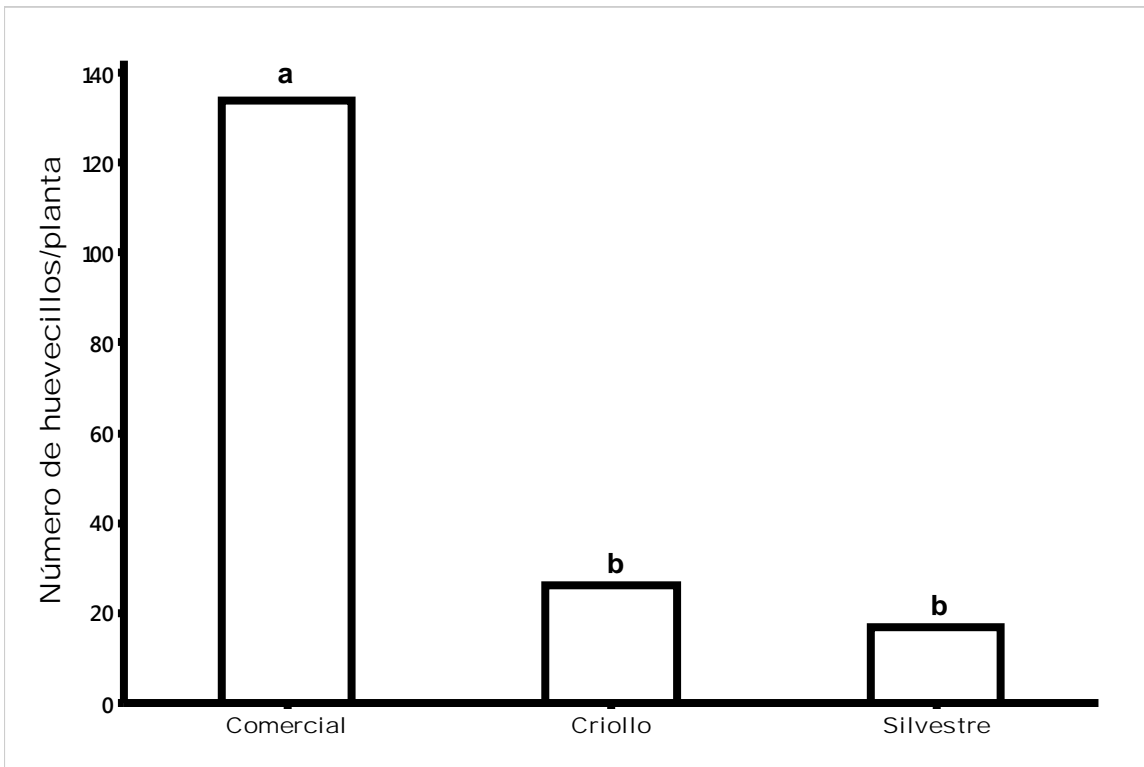


Fig. 3. Medias de huevecillos de *B. tabaci* en grupos silvestres, criollos y comerciales de *Solanum lycopersicum* utilizados en el ensayo de libre elección.

SUSTITUCIÓN DE ZILPATEROL DE PATENTE POR GENÉRICO EN OVINOS DE PELO EN FINALIZACIÓN: CALIDAD DE LA CARNE.

Alejandro Rivera Villegas ¹.

Director de Tesis: Dr. Alfredo Estrada Angulo¹.

Co-Director: Dr. Alejandro Plascencia Jorquera².

Asesores: Dra. Beatriz Isabel Castro Pérez¹, Dr. Octavio Carrillo Muro³, Dr. Jesús David Urías Estrada¹.

Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. E-mail: a-rivera-v@hotmail.com

²Instituto de Investigación de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California.

³Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la sustitución de clorhidrato de zilpaterol de patente por genérico: sobre la calidad de la carne de ovinos de pelo en finalización, se utilizaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*, provenientes de 24 ovinos machos cruce Pelibuey x Katahdin (~ 46.75±2.43kg), los cuales fueron bloqueados en base a su peso inicial, en un diseño de bloques completos al azar. Los ovinos fueron alimentados por un periodo de 33 días con una dieta de finalización (con un 14 % de proteína), a base de maíz rolado, en la cual se substituyó el clorhidrato de zilpaterol (CZ) de patente (125 mg/kg de la dieta en base seca.), por genérico de la siguiente manera: **T1**) Dieta integral para finalización denominada tratamiento Testigo sin CZ; **T2**) Dieta integral adicionando producto de patente Zilmax (MSD México); **T3**) Dieta integral adicionando producto genérico Grofactor (Virbac-México); y **T4**) Dieta integral adicionando producto genérico Zipamix (Laboratorios PISA-México). La capacidad de retención de agua (CRA), pérdida por goteo (PPG), color (L*, a* y b*) y pérdida por cocción (PPC), no fueron afectadas por ninguno de los tratamientos, mas sin embargo la resistencia al corte al incluir las diferentes fuentes de zilpaterol, aumento un 14% con respecto al testigo (p < 0.05). Por lo cual se concluye que al sustituir el clorhidrato de zilpaterol de patente por clorhidrato de zilpaterol genérico, actúan de manera similar sobre las características de calidad de la carne de ovinos de pelo en finalización.

Palabras clave: zilpaterol, genérico, patente, carne, ovino.

ABSTRAC

To evaluate the effect of the substitution of patent zilpaterol hydrochloride for generic: on the quality of the meat of hair sheep at completion, samples of the *Longissimus dorsi* muscle were used, from 24 male sheep crosses Pelibuey x Katahdin (~

46.75±2.43kg), which were blocked based on their initial weight, in a randomized complete block design. The sheep were fed for a period of 33 days with a final diet (with 14% of protein), based on rolled corn, in which the patent zilpaterol hydrochloride (CZ) was substituted (125 mg / kg of the diet on dry basis), by generic follows: **T1**) Integral diet for finalization called Treatment without CZ; **T2**) Integral diet adding Zilmax patent product (MSD Mexico); **T3**) Integral diet adding generic product Grofactor (Virbac-Mexico); and **T4**) Integral diet adding Zipamix generic product (Laboratorios PISA-México). The water retention capacity (WRC), drip loss (DL), color (L *, a * and b *) and cooking loss (CL), were not affected by any of the treatments, however, the cut resistance when including the different sources of zilpaterol increased by 14% with respect to the control ($p < 0.05$). Therefore, it is concluded that by replacing patent zilpaterol hydrochloride with generic, they act in a similar way on the quality characteristics of the sheep meat.

Keywords: zilpaterol, generic, patent, meat, sheep.

INTRODUCCIÓN.

La mayor parte de la producción ovina en México, tiene por objetivo cubrir la demanda de carne para el mercado de la zona centro del país, para abastecer los platillos típicos preferidos por los comensales de zona centro del país. Sin embargo, la producción de carne en México cubre solamente el 70 % de su consumo y de calidad regular, debido a que la producción de carne ovina se identifica como una actividad secundaria, donde los sistemas de producción extensiva no especializada y mínima tecnología, proveen al mercado nacional con animales de desecho y de baja calidad; esta situación imposibilita satisfacer la demanda y se recurre a la importación (Partida *et al.*, 2009). En cuanto a la población ovina en México en el 2014 contaba con un inventario de 8,575,908 cabezas, lo cual indica un incremento del 5.08 % en el periodo 2010-2014 y la producción de carne de ovino en dicho año fue de 58,280 toneladas (SIAP, 2014). El inventario de ovinos en el Estado de Sinaloa aproximadamente es de 222,865 cabezas, lo que indica un crecimiento del 56.5 % del año 2004 al 2012. En cuanto a la producción de carne en canal en el mismo periodo, hubo un incremento de 22.86 % (SAGARPA, 2014). Por lo cual, una alternativa para la producción ovina en este Estado, es la engorda y finalización de corderos de manera intensiva, apoyada en la vasta producción insumos agroindustriales que pueden incluirse en las dietas integrales para los ovinos, incorporando alternativas para obtener animales más eficientes en la producción de carne (Etherton, 2009). La respuesta productiva durante la finalización de ovinos, puede verse incrementada con la inclusión de compuestos que modifican la tasa de crecimiento y la calidad de la canal (Sillence, 2004; Johnson y Chung, 2007). En ovinos el uso de β -adrenérgicos como el CZ es una alternativa muy eficiente, ya que se han documentado cambios con respecto al testigo, de un 60% en la ganancia diaria de peso (GDP) al incluir 4.5 $\mu\text{g/g}$ MS en dietas de corderos en finalización (Salinas-Chavira *et al.*, 2004); López-Carlos *et al.* (2012) al agregar a la dieta de corderos CZ, en diferentes dosis y periodos (3 ppm, del día 1 al 10; 6 ppm, del día 11 al 20; 9 ppm, del día 21 al 30) observaron un aumento del 27% en la conversión alimenticia; en cuanto el peso de la canal caliente (PCC) se han observado en diversos estudios, realizados en corderas aumentos del 15% con respecto al testigo, al dosificar 10 mg de CZ/día por animal (Macías-Cruz *et al.*, 2010; Avendaño-Reyes *et al.*,

2011); Macías-Cruz *et al.* (2010) al dosificar a corderas con 10 mg de CZ/día por animal, reportaron un cambio con respecto al testigo de un 17% en el rendimiento de la canal caliente (RCC); y una disminución del 23% para el espesor de la grasa dorsal (EGD), al incluir en la dieta de corderos CZ en diferentes dosis y periodos (3 ppm, del día 1 al 10; 6 ppm, del día 11 al 20; 9 ppm, del día 21 al 30) (López-Carlos *et al.*, 2012).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las limitantes del uso clorhidrato de zilpaterol de patente (Zilmax) es su alto costo; Pero en la actualidad, en el mercado ya existen productos genéricos que contienen clorhidrato de zilpaterol y están aprobados por la Secretaría de Salud, para su uso en ruminantes, que son incluso 40% más económicos que el de patente. Sin embargo, el conocimiento de su efecto sobre la calidad de la carne en ovinos de pelo en finalización es muy limitado.

HIPÓTESIS

Al sustituir el zilpaterol de patente por genérico, se obtendrá una respuesta similar sobre las características de calidad de la carne, de ovinos de pelo en finalización.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la sustitución de zilpaterol de patente por genérico, sobre las características de calidad de la carne, de ovinos de pelo en finalización.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de la sustitución de zilpaterol de patente por genérico, sobre la capacidad de retención de agua.

Evaluar el efecto de la sustitución de zilpaterol de patente por genérico, sobre la pérdida por goteo.

Evaluar el efecto de la sustitución de zilpaterol de patente por genérico, sobre el color de la carne.

Evaluar el efecto de la sustitución de zilpaterol de patente por genérico, sobre la pérdida por cocción.

Evaluar el efecto de la sustitución de zilpaterol de patente por genérico, sobre la resistencia al corte.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de calidad de la carne se llevó a cabo en el *Laboratorio de la Calidad de la Carne* ubicado en la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Geográficamente el municipio General Enrique Estrada se localiza a 22° 59' latitud norte y 102° 44' longitud oeste, a una altura de 2,149 msnm (INEGI, 2017). Una temperatura media anual de 14 - 1 °C, como temperaturas máximas y mínimas promedio; se caracteriza por un periodo de lluvias de cuatro meses desde principios de junio y todo el verano, y seco el resto de año aunque en ocasiones

suele llover en invierno, su precipitación pluvial oscila entre los 400 y los 500 mm. El clima de la región se clasifica como semiseco templado (INAFED, 2018).

Anterior al sacrificio y toma de muestras de carne, se llevó a cabo una prueba de respuesta productiva con duración de 33 días, en la cual se utilizarán 24 ovinos machos cruza Pelibuey x Katahdin con un peso vivo inicial promedio de 35 kg. A su llegada, los animales fueron asignados al azar (Diseño de Bloques Completos al Azar), bajo el criterio de peso vivo inicial en grupos de dos en 24 corraletas experimentales techadas en su totalidad, con medidas de 3 m de largo x 2 m de ancho, equipadas con comederos metálicos de tres bocas con separadores y espacio de 20 cm entre cada boca y bebederos de llenado manual. Los ovinos fueron desparasitados por vía oral con Closantel^{MR} al 5 % (7.5 mg/ kg de peso vivo) y vacunados contra Pasteurelisis neumónica por vía subcutánea con la bacterina One Shot ^{MR}. Alimentación con las dietas experimentales. A 6 animales, se les asignó aleatoriamente una de las cuatro dietas experimentales durante 33 días a libre acceso: la composición de las dietas es descrita en la (Tabla I).

Características y manejo de las canales y toma de muestras de la carne. Al finalizar la prueba de alimentación al día 33, los ovinos recibieron un periodo de 24 horas de ayuno y después fueron sacrificados siguiendo la norma oficial mexicana: Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres (NOM-033-SAG/ZOO-2014); en el Rastro Municipal de Costa Rica, Sinaloa, las canales fueron conservadas en cuarto frío (2° C) durante 24 horas, se tomó el musculo *Longissimus Dorsi* de cada ovino y se congeló para después realizar las mediciones para determinar las variables de calidad de carne.

Para la evaluación del color de la carne, mediante el sistema CIE L*a* b* (L*, luminosidad; a*, tendencia al rojo y b*, tendencia al amarillo), se hizo la medición por triplicado por medio de un espectrocolorímetro CR-410 (Konica Minolta, New Jersey, USA), antes habiendo calibrado con los estándares. Las mediciones se realizaron a las 24 horas post-descongelamiento, después de haber sido descongeladas las muestras a 4 °C. Para la medición del color del músculo se realizó en el músculo *Longissimus dorsi*. Todo esto se realizó evitándose burbujas y zonas ensangrentadas.

Pérdida por goteo (PPG). A las 24 horas de descongelamiento de los lomos se tomaron 3 muestras, con tamaño de 0.5 cm de ancho X 0.5 cm de alto X 3.0 cm de largo, longitudinalmente a la fibra muscular y tratando de obtener muestras de 100 a 150 g. Las muestras fueron pesadas en una balanza analítica y colocadas en vasos de plásticos suspendidas con ganchos, evitando que el trozo de carne toque las paredes o tapa del vaso. Este procedimiento se realizó en una cámara a 4°C y se almacenaron a 0°C para su próximo pesaje según el tiempo de almacenamiento a las 24 y 48 horas. Una vez transcurridos estos periodos se calculó el % de PPG con la siguiente formula (Braña *et al.*, 2011).

$$CRA = \frac{\text{Peso del vaso con exudado (g)} - \text{Peso inicial del vaso (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Capacidad de retención de agua (CRA). Para determinarla se pesó una lámina de papel filtro n°54 de la marca Whatman® y se registró el peso, seguido de esto se pesaron 0.30 (± 0.05) g de muestra, la cual se colocó en medio del papel filtro, para posteriormente someterla a una presión de 2.250 kg entre dos placas de vidrio (dos cajas Petri), esto durante 5 min. Una vez realizado esto, se retiraron las placas y el papel filtro, prestando atención de que no queden restos de carne pegados a los mismos, y se volvió a pesar el papel filtro y se realizaron los cálculos para determinar el % de CRA (Ceñeque y Sañudo, 2005).

$$CRA = \frac{\text{Peso final del papel filtro (g)} - \text{Peso inicial del papel filtro (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Perdida por cocción (PPC). De los trozos de carne del musculo *Longissimus dorsi* se obtuvieron tajadas de 2.5 cm de largo x 1.5 cm de ancho, aproximadamente. Se pesaron tras la descongelación y tras la cocción en una parrilla eléctrica hasta alcanzar una temperatura interna de 69°C, después se dejaron hasta que su temperatura interna disminuyó a 30°C (Braña *et al.*, 2011). La diferencia de ambos pesos, dividido por el peso tras la descongelación, se utilizó para calcular PPC, de la siguiente manera:

Tabla I . Composición de la dieta basal suplementada con diferentes fuentes de clorhidrato de zilpaterol

Ingrediente (%)	Fuentes de Zilpaterol ¹			
	Testigo	Zimax	Grofactor	Zipamix
Maíz rolado	64.5000	64.5000	64.5000	64.5000
Heno de Sudán	12.0000	12.0000	12.0000	12.0000
Pasta de soya	10.0000	10.0000	10.0000	10.0000
Clorhidrato de Zilpaterol				
Zimax	-----	0.0143	----	----
Grofactor	-----	-----	0.0143	----
Zipamix	-----	-----	-----	0.0143

Melaza de caña	8.0000	7.9857	7.9857	7.9857
Urea	0.4300	0.4300	0.4300	0.4300
Grasa	3.0000	3.0000	3.0000	3.0000
Premezcla mineral ²	2.0700	2.0700	2.0700	2.0700
Materia seca	87.55	87.55	87.55	87.55
Composición química ³ , (en base MS)				
Proteína cruda (%)	13.23	13.23	13.23	13.23
Extracto etéreo (%)	5.57	5.57	5.57	5.57
FDN (%)	16.65	16.65	16.65	16.65
Energía neta calculada ⁴ (Mcal/kg)				
Mantenimiento	2.11	2.11	2.11	2.11
Ganancia	1.44	1.44	1.44	1.44

¹Fuentes de clorhidrato de zilpaterol [Zilmax (ZIL, MSD Salud Animal México, Estado de México, México); Grofactor (GRO, Laboratorios Virbac México, Guadalajara, México), y Zipamix (ZIPA, Pisa Agropecuaria, Guadalajara, México)] el cual fue suplementado a niveles de 125 mg/kg de la dieta en base seca.

² La premezcla mineral contenía: Calcio, 28%; Fosforos, 0.55%; Magnesio, 0.58%; Potasio, 0.65%; NaCl, 15%; vitamina A, 1,100 IU/kg; vitamina E, 11 UI/kg

³ La composición de la dieta se determinó mediante el análisis de submuestras recogidas y compuestas durante todo el experimento. La precisión se aseguró mediante una replicación adecuada con adaptación de los valores medios que estaban dentro del 5% de otros.

⁴ Basados en la energía neta (EN) de cada ingrediente.

$$PPC = \frac{\text{Peso crudo (g)} - \text{Peso cocido (g)}}{\text{Peso crudo (g)}} \times 100$$

Inmediatamente realizado lo anterior se determinó la Resistencia al corte Warner-Bratzler (RCWB). Fue determinado siguiendo la metodología utilizada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, que es descrita por Shackelford *et al.* (2004). La fuerza de corte se midió a través del equipo Warner-Bratzler fabricado por G-R Manufacturing USA. Al pasar cada bocado por la máquina, se registró la fuerza de corte en (kg) con el

dinamómetro. El promedio resultante de 8 a 10 valores de fuerza por par de trozos de 2.5 cm fue utilizado para presentar la RCWB de la carne de cada corte de cada animal.

Análisis estadístico a los valores obtenidos de los cuatro tratamientos en la calidad de la carne, se les aplicó un análisis de varianza para un Diseño Experimental de Bloques Completos al Azar, donde el criterio de bloqueo fue el peso vivo inicial, de acuerdo con el siguiente modelo estadístico: $Y_{ij} = \mu + \beta_i + t_j + \epsilon_{ij}$;

Dónde: Y_{ij} es la variable de respuesta,

μ es el promedio general,

β_i es el efecto de bloque,

t_j es el efecto de tratamiento,

ϵ_{ij} es el error experimental.

La unidad experimental correspondió a cada animal y cada tratamiento contó con seis réplicas. Se fijó un nivel máximo de $\alpha=0.05$ para aceptar diferencia estadística entre tratamientos en el análisis de varianza. Para la comparación de medias de tratamientos se utilizó la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir, que con el uso de CZ de patente y genéricos, no se generó efecto alguno en CRA ($p < 0.05$), (**Tabla II**), lo cual concuerda con los reportes de Rodríguez-Gaxiola *et al.* (2015) que al incluir 0.15 mg kg^{-1} CZ en la dieta de toretes.

Por otra parte, la PPG de igual manera no se afectó en los diferentes tratamientos al incluir CZ ($p < 0.05$), lo cual es similar a lo reportado por López-Carlos *et al.* (2012), quienes de igual manera no observaron efecto alguno sobre esta variable, al incluir CZ en diferentes programas de suministración, a la dieta de ovinos en finalización, esto coincidiendo con lo reportado por Vahedi *et al.* (2014), donde al suministrar 0.20 mg/kg de PV/d^{-1} de CZ, en diferentes periodos y métodos de inclusión en la dieta de corderos Lori-Bakhtiari tampoco observaron cambios significativos sobre esta variable.

En cuanto al color (L^* , a^* y b^*) no se observaron efectos diferentes al incluir los tratamientos de CZ ($p < 0.05$), de igual manera para los valores de (L^* y a^*) Rodríguez-Gaxiola *et al.* (2015) observaron en toretes, que al administrar una dosis 0.15 mg CZ/kg de PV/día/animal , el color de los tratamientos no obtuvieron diferencias en cuanto a estos dos parámetros, mas sin embargo en el valor b^* observaron una modificación, es decir hubo un decremento para esta variable; lo cual concuerda con los reportes de Meras-Murillo *et al.* (2016) al incluir 60 mg de CZ/novilla/día, por su parte Partida *et al.* (2015) al utilizar 0.15 mg de CZ/kg de PV corderos, obtuvieron que en el valor de b^* no hubo diferencia estadística al incluir el CZ, pero para los valores L^* y a^* disminuyeron con respecto al testigo un 15 y 17% respectivamente; por otra parte López-Carlos *et al.* (2012)

señalan los valores de *L y *b no se vieron afectados al incluir CZ en la dieta de ovinos en finalización, pero el valor de a* se reduce.

Para lo que respecta a la PPC no presentó cambios significativos al incluir las diferentes fuentes de CZ ($p < 0.05$), siendo esto igual a lo descrito por López-Carlos *et al.* (2012), quienes al incluir CZ en diferentes programas de administración, a la dieta de ovinos en finalización, no encontraron efectos sobre esta variable; lo cual concuerda con Vahedi *et al.* (2014) los cuales no reportaron cambios significativos para esta variable, al incluir en ovinos de la raza Lori-Bakhtiari 0.2mg de CZ/kg de PV, lo anterior siendo diferentes a lo reportado por Rodríguez-Gaxiola. (2015) al utilizar en toretes una dosis 0.15mg CZ/kg de PV/día/animal, presentaron un aumento para esta variable de 12.6% con respecto al testigo.

Tabla II. Efecto de la adición de dos tipos de Clorhidrato de Zilpaterol genérico sustituyendo a Clorhidrato de Zilpaterol de patente en la calidad de la carne.

VARIABLE	Fuentes de Zilpaterol ¹			
	Testigo	Zilmax	Grofactor	Zipamix
CRA				
PPG24	5.24	5.16	4.93	3.99
PPG48	6.56	5.65	5.64	5.19
Color				
L*	41.10	40.66	40.75	39.07
a*	21.23	21.06	21.64	20.79
b*	6.01	5.05	5.86	5.05
PPC	23.72	19.56	21.92	21.04
Resistencia al corte	2.63 ^b	3.81 ^a	4.27 ^a	4.24 ^a

^{a,b} indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$)

¹Fuentes de clorhidrato de zilpaterol [Zilmax (ZIL, MSD Salud Animal México, Estado de México, México); Grofactor (GRO, Laboratorios Virbac México, Guadalajara, México), y Zipamix (ZIPA, Pisa Agropecuaria, Guadalajara, México)] el cual fue suplementado a niveles de 125 mg/kg de la dieta en base seca.

CRA= capacidad de retención de agua

PPG24= pérdida por goteo a las 24 horas

PPG48= pérdida por goteo a las 48 horas

L*= luminosidad a*= índice rojo b*= índice amarillo

PPC= pérdida por cocción

Con los resultados obtenidos, se observó un aumento similar en la resistencia al corte, con las diferentes fuentes de CZ ($p < 0.05$); así mismo, los resultados concuerdan con Vahedi *et al.* (2015) que al introducir en la dieta de corderos Lori-Bakhtiari, 0.2mg de CZ/kg de PV, en diferentes periodos y modos de administración la resistencia al corte aumentaba; a diferencia de Strydom y Smith (2010) y Rodríguez-

Gaxiola (2015) al utilizar CZ en bovinos, no encontró diferencias para esta variable. Mas sin embargo, se han reportado aumentos en la resistencia al corte, cuando se introduce CZ en la dieta de bovinos en finalización (Strydom *et al.*, 2009; Holmer *et al.*, 2009; Brooks *et al.*, 2009; Meras-Murillo *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES.

Con los resultados obtenidos se concluye, que al incluir en la dieta de ovinos en finalización CZ la resistencia al corte se aumenta en 55% con respecto al testigo, dicho aumento siendo similar al sustituir el clorhidrato de zilpaterol de patente por genérico, por lo cual podemos decir que cualquiera que se la fuente de adición del CZ, actúan de manera similar sobre las características de calidad de la carne de ovinos de pelo en finalización.

LITERATURA CITADA

Avendaño-Reyes L., Macías-Cruz U., Álvarez-Valenzuela F.D., Águila-Tepato E., Torrentera-Olivera N.G., Soto-Navarro S.A. 2011. Effects of zilpaterol hydrochloride on growth performance, carcass characteristics, and wholesale cut yield of hair-breed ewe lambs consuming feedlot diets under moderate environmental conditions. *J. Anim. Sci.* 89:4188-4194.

Braña, V.D., Ramírez, R. E., Rubio, L.M.S., Sánchez, E.A., Torrescano, U.G., Arenas, M.M.L., Partida, P.J.A., Ponce, A.E., Rios, R.F.G. 2011. Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne. Ajuchitlán, Querétaro, México. Libro Técnico No 11. 20P ISBN: 978-607-425-612-3.

Brooks, J. C., Claus, H. C., Dikeman, M. E., Shook, J., Hilton, G. G., Lawrence, T. E., Mehaffey, J. M., Johnson, B. J., Allen, D. M., Streeter, M. N., Nichols, W. T., Hutcheson, J. P., Yates, D. A. y Miller, M. F. 2009. Effects of zilpaterol hydrochloride feeding duration and postmortem aging on Warner-Bratzler shear force of three muscles from beef steers and heifers. *J Anim Sci* published online Jul 31, 2009

Ceñeque, V., Sañudo. C. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa de rumiantes). Madrid, España: MICYT-INIA: Ganadera, 2005; 3.

Etherton, T.D. 2009. ASAS Centennial paper: animal growth and development research historical perspectives. *J. Anim. Sci.* 87:3060-3064.

Holmer, S. F., Fernández-Dueñas, D. M., Scramlin, S. M., Souza, C. M., McKeith, F. K., Killefer, J., Delmore, R. J., Beckett, J. L., Lawrence, T. E., VanOverbeke, D. L., Hilton, G. G., Dikeman, M. E., Brooks, J. C., Zinn, R. A., Streeter, M. N., Hutcheson, J. P., Nichols, W. T., Allen D. M., y Yates, D. A.. 2009. The effect of zilpaterol hydrochloride on meat quality of calf-fed Holstein steers. *J Anim Sci* published online Jul 31, 2009.

INAFED. 2018. Instituto Nacional Para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. <https://www.gob.mx/inafed>

INEGI. 2017. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. <https://www.inegi.org.mx/>

Johnson B.J., Chung K.Y. 2007. Alterations in the physiology of growth of cattle with growth enhancing compounds. *Ver. Clin. Food Anim.* 23:321-332.

López-Carlos, M.A., Ramírez R.G., Aguilera-Soto J.I., Rodríguez H., Aréchiga C.F., Méndez-Llorente F., Chavez J.J., Medina C.A., Silva J.M. 2012. Effect of the administration program of 2 β -adrenergic agonists on growth performance and carcass and meat characteristics of feedlot ram lambs. *J. Anim. Sci.*, 90:1521-1531.

Macías-Cruz, U., Álvarez-Valenzuela F.D., Torrentera-Olivera N.G., Velázquez-Morales J.V., Correa-Calderón A., Avendaño-Reyes L. 2010. Effect of zilpaterol hydrochloride on feedlot performance and carcass characteristics of ewe lambs during heat-stress conditions. *Anim. Prod. Sci.* 50:983-989.

Meraz-Murillo, F. J., Avendaño-Reyes, L., Pérez-Linares, C., Figueroa-Saavedra, F., Torres-Rodríguez, V., Guerra-Liera, J. E., Mellado, M. y Macías-Cruz, U. 2016. Feedlot performance, carcass characteristics and meat quality of Zebu heifers supplemented with two β -adrenergic agonists. *Animal Production Science* 57(10) 2125-2132.

NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres.

Partida P. J. A., Braña D., Martínez L. 2009. Desempeño productivo y propiedades de la canal en ovinos Pelibuey y sus cruzas con Suffolk o Dorset. *Téc. Pecu. Méx.* 47:313-322.

Partida, P.J.A., Casaya-Rodríguez T.A., Rubio, L.M.S., Méndez-Medina R. D. 2015. Effect of zilpaterol hydrochloride on the carcass characteristics of Katahdin lamb terminal crosses. *Veterinaria México OA.* 2015;2 (2). doi: 10.21753/vmoa.2.2.346.

Rodríguez-Gaxiola, M. A., Domínguez-Vara, I. A., Barajas-Cruz, R., Mariezcurrema-Berasain, M. A., Bórquez-Gastelum, J. L. y Cervantes-Pacheco, B. J. 2015. Effects of zilpaterol hydrochloride and zinc methionine on growth performance and carcass characteristics of beef bulls. *Can. J. Anim. Sci.* (2015) 95: 609 615.

SAGARPA. 2014. Producción de ovinocultura en México. Secretaría de Agricultura Ganadería desarrollo Rural Pesca y Alimentación.

Salinas-Chavira J., Ramirez R.G., Dominguez-Muñoz M., Palomo-Cruz R., López-Acuña V.H. 2004. Influence of zilpaterol hydrochloride on growth and carcass characteristics of Pelibuey lambs. *J. Appl. Anim. Res.* 26, 13-16.

Shackelford, S. D., T. L. Wheeler, and M. Koohmaraie. 2004. Technical note: use of belt grill cookery and slice shear force for assessment of pork longissimus tenderness. *J. Anim. Sci.* 82:238-241.

SIAP. 2014. Sistema de información agropecuaria y pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Análisis estadístico de la producción agrícola. <http://www.siap.gob.mx>.

Sillence, M.N. 2004. Technologies for the control of fat and lean deposition in livestock. *Vet. J.* 167:242-257.

Strydom P. E. y. Smith M. F. 2010. Effects of duration of zilpaterol hydrochloride supplementation on growth performance, carcass traits and meat quality of grain-fed cull cows. *Animal (2010)*, 4:4, pp 653–660.

Strydom P. E., Frylinck L., Montgomery J. L., Smith M. F. 2009. The comparison of three b-agonists for growth performance, carcass characteristics and meat quality of feedlot cattle. *ELSEVIER*. 557-5564 p.

Vahedi V., SHahneh A. Z., Towhidi A., Sadeghi M., Zamani F. 2014. The effects of Feeding Regimens and duration of Zilpaterol hydrochloride on meat Characteristics of fattening lambs. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, Vol 3 (3) February 2014: 269-274

DIVERSIDAD GENÉTICA Y POTENCIAL PATOGENICO DE POBLACIONES DE *Fusarium spp.* DE CULTIVOS DE CHILE (*Capsicum spp.*) EN EL ESTADO DE SINALOA

Alfredo Gonzalez Castro¹, Carlos Alfonso López Orona¹, Tomas Diaz Valdes¹, Moisés Yáñez Juárez¹, Guadalupe Alfonso López Urquides¹, Jesús Enrique Retes Manjarrez¹ y Luis Alfonso Amarillas Bueno³

¹ Estudiante, Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía.
alfredogonzalezcastro853@gmail.com

¹ Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. C.P. 80000. Culiacán, Sinaloa.

² Instituto de Investigación Lightbourn A.C. www.lightbourn.mx

INTRODUCCIÓN

La producción de *Capsicum spp* en México ocupa los primeros lugares en el mundo; lo anterior debido a las características organolépticas y nutritivas que presentan las diferentes variedades (Latournerie *et al.*, 2015). En Sinaloa de acuerdo al *Avance de Siembras y Cosechas* del SIAP (2018), en el ciclo otoño-invierno se sembró una superficie de 15,390 ha, con una producción de 805,490 ton con un rendimiento promedio de 52.34 ton/ha, es importante mencionar que esta estadística se refiere a chile verde, no existen datos que muestren la producción diferenciada por tipo de chiles. El chile (*Capsicum spp.*) es uno de los cultivos hortícolas más importante en nuestro país, debido a su aporte económico, social y alimenticio en los últimos años este cultivo ha sido afectado seriamente por la enfermedad conocida como “marchitez de la planta de chile” que consiste en la muerte rápida de la planta por desecamiento de la raíz, provocada por la presencia de hongos fitopatógenos entre los que destacan *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia solani.*, y *Phytophthora capsici.* provocando pérdidas de hasta un 60% en superficies sembradas de algunos estados productores. (Rico *et al.*, 2004). El género *Fusarium* fue descrito por Link en 1809 (Leslie an Sumerell, 2006), el cual tiene una amplia gama de especies y además se han identificado más de 120 *formae specialis*, basadas en la especificidad del huésped y cultivar que colonizan (Michielse y Rep, 2009). Se caracteriza por la producción de conidias en forma de canoa, hialinos y septados conocidos como macroconidias y algunas especies las producen en cuerpos fructíferos conocidos como esporodoquios. Otras especies pueden producir diferentes tipos de esporas conocidas como microconidias, mesoconidias e igualmente producen estructuras de resistencia conocidas como clamidiosporas, las cuales pueden sobrevivir en condiciones adversas por varios años (Agrios, 2005). En los últimos años el progreso de la tecnología y herramientas en biología molecular ha sido enorme, diferentes métodos son usados para la identificación y caracterización de *Fusarium spp* en el cual encontramos PCR (Polymerase chain reaction) mediante esta prueba molecular se identificó las razas

fisiológicas de *Fusarium oxisporum* en garbanzo en la región del noroeste México. (Velarde *et al.*, 2015), AFLP (Polymorphism in the length of amplified fragments) se caracterizó la diversidad patogénica y genética de *Fusarium* obtenidos en plantas de frijol (Martínez *et al.*, 2004) en Soya se identificaron aislamientos de *Fusarium* a nivel de especie con ITS (Frequency analysis of spacers) y 1- α (EF-1 α) Translation elongation factor (Zhou *et al.*, 2018). En la actualidad, los agricultores utilizan una gran cantidad de productos químicos para mantener la fertilidad del suelo y combatir a patógenos que atacan a los cultivos, provocando así, contaminación en el suelo y en sistemas de aguas, tanto superficiales como subterráneas. Los compuestos agrotóxicos generalmente presentan consecuencias indeseables, puesto que al poseer sustancias altamente venenosas, se bioacumulan en el organismos de los seres humanos, siendo capaces de causar enfermedades peligrosas tales como el cáncer y mutaciones genéticas (Muñoz, 2012).

PROBLEMA CIENTÍFICO

La marchitez de la planta de chile causada por el complejo de especies de *Fusarium spp.*, es una enfermedad de importancia económica, así como una seria amenaza para la producción de *Capsicum spp.*, a nivel mundial. Actualmente se han realizado numerosos estudios encaminados a la caracterización de la fusariosis vascular causada por *Fusarium spp.*, en diferentes cultivos de importancia económica: Garbanzo (Velarde- Félix *et al.*, 2013) Soya (Zhou *et al.*, 2018) Clavel (Lemus, 2018) tomate (Asencio-Álvarez *et al.*, 2008), etc. Sin embargo, a la fecha existen pocos estudios que permita identificar a las especies de *Fusarium spp.*, asociadas a los cultivos de *Capsicum spp.*, causando la fusariosis vascular. El principal método de control de las enfermedades en el cultivo de chile es el químico, donde los excedentes de fungicidas aplicados en el cultivo de chile (*Capsicum spp.*), representan un riesgo potencial a la salud pública, no solo consumir directamente la hortaliza contaminado por estos compuestos, sino también por la contaminación difusa que pudiera existir hacia los cuerpos de agua. De ahí de realizar estudios que permitan identificar y caracterizar la variabilidad existente de las especies fitopatógenas presentes en el cultivo teniendo en cuenta que este conocimiento es esencial para el desarrollo e implementación de estrategias efectivas para el control y manejo de la enfermedad en el Valle de Sinaloa.

HIPÓTESIS

Es posible detectar la presencia de *Fusarium spp.* en campos cultivados de chile en el estado de Sinaloa y detectar las variedades más susceptibles a esta especie de fitopatógeno al que se dará un manejo químico y biológico.

OBJETIVO GENERAL

Generar conocimiento sobre la estructura y diversidad genética y potencial patogénico de poblaciones de *Fusarium spp.* de cultivos de chile (*Capsicum spp.*) en el estado de Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conocer la variabilidad genética presente o predominante de *Fusarium spp* en las distintas zonas, del Valle de Sinaloa.
2. Realizar una caracterización morfológica de *Fusarium spp*.
3. Evaluar el efecto de la temperatura y humedad sobre aislamientos de *Fusarium spp*
4. Determinar la patogenicidad de aislamientos del género *Fusarium spp* colectados en plantas del género *Capsicum* en el Valle de Sinaloa.
5. Evaluar agentes de control biológico frente a aislamientos de *Fusarium spp*. in vitro
6. Determinar la sensibilidad a diversos fungicidas de aislamientos de *Fusarium spp*
7. Identificar molecularmente las poblaciones de *Fusarium spp*. presentes en cultivos de chile (*Capsicum spp.*)

MATERIALES Y METODOS

Colecta. Durante el periodo de siembra Otoño-invierno 2018-2019 y desarrollo del cultivo de chile *Capsicum spp.*, Se tomarán muestras aleatorias en las zonas sembradas de (*Capsicum spp.*) donde se tomarán plantas con el daño de *Fusarium spp.* en raíces y tallos. las muestras se tomarán de los lotes establecidos con el cultivo *Capsicum spp.*, en los municipios del estado de Sinaloa.

Aislamiento. Después de obtener el material vegetal con síntomas característicos de la pudrición del tallo y raíz, se procederá a aislar, identificar y purificar los aislamientos en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Posteriormente se purificarán y preservarán por el método Castellani (1963). se procederá a pasar cada colonia de hongo obtenida de cada lote para otras placas Petry, identificadas por tratamiento (lotes) y que contengan el mismo medio de cultivo antes mencionado.

Caracterización morfológica. Los aislamientos se identificarán mediante las claves y descripciones de géneros y especies de hongos fitopatógenos. (Booth (1971), Nelson *et al.*, (1983), Gerlach and Nirenberg (1982), Burgess *et al.*, (1994) y Leslie and Summerell (2006).

Efecto de la temperatura sobre el crecimiento y desarrollo de *Fusarium spp.*, en condiciones de laboratorio. Para determinar el efecto de la temperatura sobre los aislamientos de *Fusarium spp.* obtenidos en lotes cultivados de chile (*Capsicum spp.*) se procederá a preparar placas Petry de 90 mm que contenían medio PDA sobre el cual se puso a crecer por cinco días cada aislamiento obtenido. Posterior a este tiempo en cada placa se sembrará un disco de 5 mm de diámetro, este disco se toma del borde de la colonia donde el micelio está en pleno crecimiento. Las placas Petry se colocaron en

incubadoras (precisión = 1°C) que se regularan a cuatro condiciones de temperatura (15°C, 25°C, 35°C y 45°C), y se evaluará cada 24 horas el índice de crecimiento diario por 7 días.

Cultivos Monospóricos. Los cultivos monospóricos se obtendrán a partir de aislados puros de 7 días, esto con el fin de tener una mayor estabilidad genética de los aislamientos.

Conservación. La conservación de los aislamientos obtenidos se realizará por el método Castellani (1963)

Pruebas de Patogenicidad. Las pruebas de patogenicidad se llevaran a cabo en el Invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Preparación del inoculo. La suspensión de esporas se obtendrá a partir de aislados puros monospóricos cultivados en PDA

Preparación del suelo. Se usará una mezcla de suelo y cascarilla de arroz (1:1), el cual será debidamente esterilizado

Confirmación de los aislamientos patogénicos. Después de la elección del método de inoculación se procederá a la selección de los aislados patogénicos, para el cual se utilizarán 4 cultivares de *Capsicum spp.*

Evaluación de la enfermedad. Se evaluará la Incidencia y Severidad durante 60 días. La severidad de síntomas de cada planta se evaluará con una escala de 0 a 5 (Modificado de Elmer *et al.*, 2004).

Análisis estadísticos de los ensayos de patogenicidad. Los datos obtenidos de Incidencia y Severidad serán sometidos a un análisis de varianza mediante el programa S.A.S. 9.3 (Statistical Analysis System, Institute Inc.). Las medias de los tratamientos se analizarán mediante la prueba de Tukey ($p=0.05$).

Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* contra *Fusarium spp.*, en condiciones de laboratorio.

Para la evaluación de este experimento se utilizará un aislamiento nativo de *T. harzianum* del Estado de Sinaloa previamente caracterizado y con una velocidad de crecimiento (superior a $0,70 \text{ mm.h}^{-1}$ a temperatura de 28°C) y capacidad de esporulación (al menos $2,31 \times 10^5$ conidios. mm^{-2}). Se tomarán tres aislamientos de *Fusarium spp.* previamente caracterizados y aislados de campos cultivados de chile (*Capsicum spp.*) del Valle de Sinaloa. Se evaluará el efecto antagónico de *T. harzianum* sobre *Fusarium spp.* por el método de cultivo dual (CD) (Bell *et al.*, 1982). Los datos se procesarán mediante un análisis de varianza de clasificación simple. Las medias se compararon mediante la Prueba de Tukey al 5%. Para los análisis se utilizará el Paquete Estadístico SAS, versión 9.1 (SAS Institute, 2004).

Competencia por espacio. Se evaluará el grado de antagonismo mediante la escala de clases de (Bell *et al.* 1982).

Micoparasitismo. La actividad micoparasítica se evaluará a los siete días de montado el cultivo dual.

Antibiosis. Para evaluar el efecto de antibiosis de los aislamientos de *T. harzianum* frente al patógeno, se calculará el PICR con relación al testigo a las 24 h del cultivo dual, momento en el cual no existía contacto físico entre ambas colonias. Con los datos se realizará un análisis de conglomerados (método de Ward y distancia euclidiana cuadrada) y para confirmar la confiabilidad en la formación de los grupos, un análisis discriminante.

Sensibilidad de *Fusarium spp.* a fungicidas empleados en el cultivo de chile (*Capsicum spp.*), en condiciones de laboratorio. Según Pozo (1987), De los aislamientos de *Fusarium spp.* encontrados en el Valle de Sinaloa se tomará uno de ellos para determinar la el efecto de 4 fungicidas, recomendados para el cultivo de chile (*Capsicum spp.*) Con los datos obtenidos del crecimiento micelial y germinación, se calculará el porcentaje de inhibición por la fórmula de Abbott (1925), los datos serán transformados por la expresión $2 \arcsen \sqrt{p}$, y la esporulación mediante la expresión $\text{Log}_{10}(x+10)$ (Lerch, 1977). Los datos se procesarán mediante un análisis de varianza de clasificación simple. Las medias se compararán mediante la Prueba de Tukey al 5%. Para los análisis se utilizará el Paquete Estadístico SAS, versión 9.1 (SAS Institute, 2004). Para clasificar a los plaguicidas a evaluar de acuerdo al efecto tóxico provocado sobre el crecimiento micelial de los hongos antagonistas se utilizará la escala recomendada por Martínez y Figueroa (2007), en la que se consideran tres niveles de toxicidad.

Efecto de los plaguicidas sobre la germinación conidial de *Fusarium spp.*

Para determinar el efecto de los plaguicidas sobre la germinación conidial se prepararán suspensiones conidiales de los aislamientos del hongo en agua destilada estéril, a partir de cultivos puros.

Caracterización molecular. Los aislamientos de *Fusarium* spp., serán identificados mediante el uso de primers específicos para la especie.

Extracción de ADN. Los aislamientos serán crecidos en Erlenmeyers de 125 ml de capacidad con 50 ml de caldo papa y dextrosa bajo agitación a 30°C por 4 días. El micelio obtenido será filtrado con papel Whatman # 1 bajo vacío, congelado a -20°C y liofilizado. Alrededor de 100 mg de micelio serán utilizados para extraer el ADN siguiendo el método modificado de CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio) (Murray and Thompson, 1980).

Reacción en cadena de polimerasa (PCR). Todas las muestras de ADN serán amplificadas por duplicado. Cada reacción será llevada a cabo en un volumen final de 20 µl que contenía 0.5 mM de cada primer, 1X de buffer (Invitrogen Carlsbad, CA), 1,5 mM de Cl₂Mg, 0.2 mM de cada dNTP, 1U de Taq DNApolimerasa (Invitrogen Carlsbad, CA) y 10 ng de ADN. El primers específicos utilizado fue J1Af para *Fusarium* spp. (Turner *et al.*, 1998)

Literatura citada

1. Agrios, G.N. (2005). Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press, California, USA. 922 p.
2. Aguilar R. V. H., T. Corona T., P. López L., L. Latournerie M., M. Ramírez M., H. Villalón M. y J. A. Aguilar C. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, COLPOS, INIFAP, ITConkal, UANL, UAN. México. 114 pp.
3. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.
4. Castellani, A. 1963. Further Researches on the long viability and growth of many pathogenic fungi and some bacteria in the sterile distilled water. Mycopathologia. Den Haag. V. 20. P 1-6. 1963.
5. García, H. G; Martínez, A. R; López, C. A; Díaz, J. M. 2016. First report of *Fusarium avenaceum* causing stalk and root rot in commercial potato crops (*Solanum tuberosum*) in the Toluca Valley, Mexico. Published by The American Phytopathological Society.
6. Hernandez- Mendoza, José Luis *et al.*, 2011. Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma* spp., nativos del noreste de México. *Rev. colomb. Biotecnol.*13(12) 176-185.

7. Latournerie M. L., J. S. López V., G. Castañón N., J. O. Mijangos C., G. Espadas V., A. Pérez G. y E. Ruiz S. 2015. Evaluación agronómica de germoplasma de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Agroproductividad 1: 24-29.
8. Lemus-Minor, C. G., Cañizares, M. C., García-Pedrajas, M. D., and Pérez-Artés, E. (2018). *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* virus 1 accumulation is correlated with changes in virulence and other phenotypic traits of its fungal host. *Phytopathology*. Online publication. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-17-0200-R>
9. Leslie, John F. And Summerell, Brett A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. 388p.
10. Nelson, E. P., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification*. The Pennsylvania State University Press. USA. 193 p.
11. Martínez Garnica, Mayra; Hernández Delgado, Sanjuana; Padilla Ramírez, José Saúl; Mayek Pérez, Netzahualcóyotl *Diversidad Patogénica y Genética de Aislamientos de Fusarium de Aguascalientes, México* Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 22, núm. 3, diciembre, 2004, pp. 321-327 Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México.
12. Muñoz, L. 2012. Caracterización molecular y funcional de aislados de *Trichoderma* spp. Recolectadas en fincas orgánicas de la región de la sierra de Ecuador. Carrera de Ingeniería en Biotecnología, Escuela politécnica del Ejercito, Sangolqui, Ecuador.
13. Rico, G.L., Medina, R.S., Muñoz, S.C., Guevara, O.L., Guevara, G.R., Guerrero, A.B., Torres, P.I., Rodríguez, H.R., González, C.M. 2004. Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plan de chile (*Capsicum annum* L.) Revista Mexicana de Fitopatología 22:1-6.
14. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2018. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do consultado el 28 de junio de 2018.
15. SAS Institute. 2004. *SAS/STAT 9.1 User's Guide*. SAS Institute Inc., Cary, N.C.
16. Spooner, D.M. y W.L.A. Hettterscheid. 2005. Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. pp. 285-307. En: Motley, T.J., N. Zerega y H. Cross (eds.). *Darwin's harvest: new approaches to the origins, evolution and conservation of crops*. Columbia University Press, New York, NY.
17. Termorshuizen, A. J. 2007. Fungal and fungus-like pathogens of potato. 643-665. *In: Vreugdenhil, D. (ed.), Potato biology and biotechnology: Advances and perspectives*.
18. Velarde Félix, Sixto; Ortega Murrieta, Pedro F.; Fierros Leyva, Gustavo A.; Padilla Valenzuela, Isidoro; Gutierrez Pérez, Erasmo; Rodríguez Cota, Franklin G.; López Valenzuela, José A.; Acosta Gallegos, Jorge A.; Garzón Tiznado, José A. 2015. Identificación molecular y biológica de las razas 0 y 5 de *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & K. Sato del garbanzo en el noroeste de México Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, vol. 6, núm. 4, mayo-junio, 2015, pp. 735-748 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Estado de México, México

19. Velasco V.G. Evaluación de la Efectividad Biológica de Cepas de *Bacillus spp.* en la Regulación de *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* para el Control de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.) y su Efecto en el Desarrollo de Plantas Bajo Condiciones de Invernadero. TESIS Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de : Ingeniero en Agrobiología Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Mayo del 2006
20. Vera S. K. S., J. Cadena I., L. Latournerie M., J. F. Santiaguillo H., A. Rodríguez C., F. A. Basurto P., D. Castro L., E. Rodríguez G., P. López L. y E. Ríos S. 2016. Conservación y utilización sostenible de las Hortalizas Nativas de México. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. México. 132 pp.

REUTILIZACIÓN DE UN DISPOSITIVO INTRAVAGINAL PARA LA SINCRONIZACIÓN/ INDUCCIÓN DE ESTRO (CIDR): EFECTO SOBRE LA MICROBIOTA VAGINAL EN CAPRINOS

Jesús Antonio Ceballos Rubio¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola¹, Jaime Eleazar Borbolla Ibarra¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Nohemí Castro del Campo¹

Maestría en Ciencias Agropecuarias

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Sinaloa.

soyantonio_95@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En las unidades de producción de carne el número de animales comercializados por año es el principal factor que determina la rentabilidad de la empresa, lo cual depende, en gran medida, de la eficiencia reproductiva del rebaño (Partida *et al.*, 2013). Las cabras son animales poliéstricos estacionales, teniendo en cuenta esto, los implantes de progestágeno intravaginal se utilizan con frecuencia para la inducción del estro o la sincronización, lo que puede permitir una mejor planificación de la gestión reproductiva y son cruciales para la inseminación a tiempo fijo (Amiridis y Cseh, 2012).

Los dispositivos intravaginales son producidos a base de poliuretano y/o en un molde de silicona, donde se inyecta progesterona natural o sintética. Existen diferentes variantes de dispositivos intravaginales liberadores de hormonas, entre los que se encuentran básicamente 2 grupos las esponjas de poliuretano de alta densidad y los dispositivos compuestos a base de silicona. Las esponjas son impregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) o acetato de fluorogestona (FGA); y los dispositivos de silicona son impregnados con progesterona (CIDR, Cronipres CO, DICO), los cuales varían en tamaño, forma y número de veces que pueden reutilizarse (Manes y Ungerfeld, 2015).

El uso de dispositivos intravaginales, independientemente de su composición (silicona o poliuretano), puede generar cambios en la flora bacteriana normal del moco vaginal (Manes *et al.* 2010). Esto debido a la acción física, la absorción constante, la retención de las secreciones vaginales (AL-Hamedawí *et al.*, 2003), así como también al efecto inmunosupresor de los progestágenos presentes en los dispositivos (Lewis, 2003).

La flora vaginal aislada normalmente en ovejas es Gram positiva, predominando las especies del género *Bacillus* spp. Al retirar los dispositivos (esponjas o dispositivos de silicona) la flora predominante cambia a Gram negativa, prevaleciendo las Enterobacterias, siendo *Escherichia* spp. la especie aislada con mayor frecuencia (Manes *et al.*, 2010). Así como, ya se informó del aislamiento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococo* sp. y *Listeria* sp. (Shallali *et al.*, 2001).

Cuando es retirado el implante, se observan comúnmente signos clínicos de vaginitis, así como una descarga vaginal mucopurulenta (Penna *et al.*, 2013). La presencia de secreción purulenta y descargas vaginales anormales fétidas han sido relacionadas con la alta incidencia de óvulos no fertilizados en animales inseminados y superovulados artificialmente, con alteración de desarrollo embrionario y las tasas de embarazo reducidos, embriones poco después transferidos (Scudamore, 1988).

Hoy en día, existe una amplia literatura sobre el efecto sobre la microbiota vaginal ocasionado por el uso de estos dispositivos intravaginales, sin embargo, es poca la información obtenida hasta el momento sobre los efectos negativos en la reutilización de CIDR, a pesar de ser una práctica muy común por los ganaderos para el ahorro de costos de producción.

HIPÓTESIS

La microbiota vaginal aumentará su concentración con la reutilización de CIDR en caprinos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la reutilización de dispositivos intravaginales para la sincronización/Inducción de estro (CIDR) sobre el comportamiento de la microbiota vaginal.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- Cuantificar las poblaciones de bacterias asociadas a vaginitis en la etapa de estro con 3 tratamientos de desinfección y esterilización de CIDR en su reutilización.
- Identificar las bacterias aisladas asociadas a vaginitis en reutilización del CIDR con tratamiento de desinfección y/o esterilización.
- Evaluar la resistencia a antibiótico de las bacterias identificadas.

Marco teórico

Importancia del ganado caprino

Los seres humanos han utilizado a las cabras para obtener leche, carne y pelo (Dubeuf et al., 2004). Las cabras se encuentran distribuidas mundialmente, sin embargo los países que concentran la mayor cantidad de animales son India, China, Pakistán, Bangladesh y Nigeria (Salinas-González et al., 2015). En México las explotaciones de ganado caprino se localizan en las zonas áridas del país, las cuales generalmente son las regiones con mayor escasez de recursos tales como el agua y alimento (Salinas-González et al., 2016). En esta región se concentra más del 60 por ciento caracterizado por un sistema de producción extensivo (Salinas-González et al., 2015).

Características reproductivas de la cabra

De acuerdo a su comportamiento reproductivo, los mamíferos se clasifican en reproductores estacionales o continuos, según ciclen (manifiesten celo) en una determinada época o durante todo el año. Dentro del primer grupo, y según cual es la estación de cría, se clasifican en estacionales de fotoperiodo ascendente (entran en celo cuando las horas de luz aumentan, en la primavera) o descendente (manifiestan celo cuando los días se acortan, en el otoño). En base a esta clasificación, los caprinos están considerados como reproductores poliéstricas estacionales de fotoperiodo descendente (Evans y Maxwell, 1990).

Fisiología reproductiva de la cabra.

La duración del estro en la cabra criolla del norte de México es muy variable (12 a 60 horas) y es afectada por la época del año. En general, se presenta un mayor porcentaje de cabras con celo de menos de 12 horas al inicio de la actividad reproductiva, porcentaje que disminuye conforme avanza dicha actividad, situación en la cual el mayor porcentaje

corresponde a cabras con celos de 24 a 36 horas; las hembras primaras tuvieron proporciones superiores a las multíparas para estros con duración de menos de 12 horas, lo cual se invierte para celos entre 12 y 24 horas (Benavides, 1983).

Control de la reproducción

Algunas razas de ovinos y caprinos originarios o adaptados a latitudes subtropicales presentan estacionalidad en su actividad reproductiva (Carillo et al., 2010, Delgadillo et al., 2003). Debido a las débiles variaciones fotoperiódicas que se registran en las regiones subtropicales, y a las 13 importantes variaciones estacionales de la disponibilidad de alimento para los animales mantenidos en condiciones extensivas, algunos autores han sugerido que la alimentación es el principal factor que determina la actividad sexual en estas zonas (Delgadillo et al 2003).

Sin embargo, la estacionalidad reproductiva también se ha observado en los animales mantenidos en estabulación y con buena condición corporal, la actividad estral y ovárica inician en septiembre y terminan en febrero (Duarte et al., 2008). Lo anterior sugiere que la estacionalidad reproductiva de los caprinos locales del norte de México no depende primordialmente de la disponibilidad alimentaria. Esto sugiere que la alimentación, aunque no es el factor regulador principal, actúa como modulador de la actividad sexual de las hembras caprinas locales del norte de México tal como fue propuesto para las razas originarias de las zonas templadas (De Santiago-Miramontes et al., 2008; Malpoux, 1999).

Inducción y sincronización del estro y la ovulación.

El control de la reproducción permite inducir la actividad sexual de las cabras, o bien, reducir la época de empadre y pariciones con una fertilidad normal, que implicaría un ahorro en la mano de obra, mejores ingresos al vender los productos caprinos en la época de mayor demanda y aumento de la eficiencia reproductiva del rebaño (Vargas y López, 1991).

Microbiota vaginal de rumiantes

La vagina de animales saludables está colonizada por distintas especies de *Lactobacillus* como microorganismos predominantes, el balance óptimo en la vagina se define por el contenido en *Lactobacillus* spp. (Vázquez et al., 2008). Estas bacterias se utilizan como microorganismos probióticos y su uso no es nuevo, ya que se consumen desde la antigüedad, sin embargo, el concepto de microbio como agente perjudicial para la salud es el que prevalece y se minimiza el potencial benéfico de algunas bacterias (Wilson et al., 2010).

Swart et al (2014) en su trabajo describe que tanto las ovejas como las vacas fueron colonizadas predominantemente por los filamentos bacterianos Bacteroidetes, Fusobacteria y Proteobacteria. Los géneros más abundantes fueron *Aggregatibacter* spp., Y *Streptobacillus* spp. *Lactobacillus* spp. se detectaron en 80% de las muestras de oveja y 90% de las vacas, pero solo en muy poca abundancia. Las bacterias descritas anteriormente en estudios basados en cultivos como comunes en el tracto vaginal de la vaca y la oveja, a excepción de *Escherichia*, estaban presentes de forma variable, y solo en baja abundancia.

Swartz et al. 2014 describieron que son varios los trastornos reproductivos en la hembra bovina que involucran a bacterias responsables de diferentes infecciones; sin embargo, se conoce poco de la microbiota vaginal normal. Estos investigadores tomaron muestras de 20 vacas que variaban en edad, mediante lavados del recto-cervix-vaginal y posteriormente ampliaron y secuenciaron el segmento 16S del ARN (RNAr). Como resultado se encontró una amplia diversidad de la microbiota, entre ellas: Bacteroides, Fusobacteria, Proteobacteria. Los géneros más abundantes fueron *Aggregatibacter* spp., *Streptobacillus* spp. y *Lactobacillus* sp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del experimento

El experimento se realizará en la unidad de producción ovina y caprina de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. El análisis de las muestras se está realizando en el laboratorio de bacteriología de la misma Facultad.

Experimento

Se seleccionaron 15 cabras para realizar 3 grupos con las mismas características entre los grupos. Se insertó el dispositivo (CIDR) y se tomó un hisopado antes de introducirlo. El CIDR fue retirado a los 6 días de ser implantado, una vez retirado se identificará a cual animal corresponde. Los dispositivos intravaginales fueron esterilizados y desinfectados utilizando los siguientes métodos: autoclave (5 dispositivos), Luz ultra violeta (5 dispositivos) y cloruro de benzalconio (5 dispositivos). Previo al inicio del experimento se seleccionó al azar el tratamiento correspondiente para cada uno de los dispositivos. Los CIDR fueron reutilizados e insertados a los mismos animales.

Toma de muestra

En un muestreo por conveniencia se tomaron 15 cabras no gestantes, la vulva se lavó y desinfectó con alcohol al 70% y secados con sanitas. Con un hisopo haciendo movimientos giratorios dentro de la vagina del animal se tomó una muestra, posteriormente el hisopo se depositó en un tubo con solución salina.

Transporte de las muestras

Todas las muestras fueron depositadas en un recipiente hermético y con hielo para ser transportadas posteriormente al laboratorio de bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la universidad autónoma de Sinaloa.

Disoluciones

Con la ayuda de un vortex se homogenizaron las muestras, posteriormente, utilizando una micropipeta se tomaron una muestra para hacer las siguientes disoluciones: 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000.

Cultivo de bacterias

En una caja Petri con agar sangre, se sembró cada una de las disoluciones realizadas (1:100, 1:1000, 1:10000). Utilizando una pipeta se tomaron 100 μ L en el centro de la placa y con la ayuda de una espátula de Grigalsky se dispersó la muestra por toda la superficie de la placa.

Preparación de pruebas bioquímicas

Se realizaron 5 pruebas bioquímicas para cada una de las muestras. Las muestras se prepararon en tubos de ensayo de 6 mL, Sulfuro Indol Motilidad (SIM) (4 mL/tubo), TSI (6 mL/tubo), LIA (6 mL/tubo), citrato de Simmons (6 mL/tubo), G. N. (6 mL/tubo). Los tubos de ensayos con los diferentes medios de cultivo se esterilizaron en autoclave por 15 minutos a una temperatura de 121 °C y una presión de 15 lbf/ui². Los tubos de ensayos con medios de cultivo de G.N. y SIM fueron puestos en gradillas, mientras que los tubos de TSI, LIA y citrato de Simmons fueron puestos en una superficie con una inclinación de 15° en una superficie plana. Se dejaron secar los tubos de ensayos hasta que salifiquen.

Aislamiento

Se sembró cada una de las muestras en agar sangre y se dejaron en la incubadora por 24 hrs. a una temperatura de 37°C.

Análisis de resistencia

Se preparó un medio agar de Mueller-Hinton de acuerdo a las instrucciones del fabricante, el pH final a temperatura ambiente estuvo entre 7.2 y 7.4; posteriormente se colocaron 25 mL del medio en cajas de Petri de 90 mm diámetro o 60 mL, de tal forma que la profundidad sea de 4 mm. Las placas fueron guardadas en el refrigerador (2 a 8 °C) en bolsas de plástico, para disminuir la pérdida de agua por evaporación, antes de usarse, las placas se colocaron en una incubadora a 35 °C por 30 minutos para eliminar la humedad excesiva. Con una asa se tocó cuatro ó cinco colonias aisladas del mismo tipo morfológico e incubar en 4 ó 5 mL de medio de cultivo, pudiendo ser caldo Mueller-Hinton o caldo de soya tripticasa; se incubará a 35 °C hasta que aparezca una turbidez ligera (generalmente entre 2 a 5 horas) la turbidez se ajustó con solución salina estéril o caldo estéril hasta tener una densidad comparable, con un estándar de sulfato de bario. El estándar se preparó mezclando 0.5 mL de BaCl₂ 0.048M (1.175% peso/volumen de BaCl₂·2H₂O) con 99.5 mL de H₂SO₄ al 1% v/v (0.36 N), que es la mitad del estándar No.1 de MacFarland (se denomina a menudo estándar 0.5 de MacFarland) el estándar corresponde a aproximadamente 10⁸ microorganismos/mL. La suspensión ajustada del inóculo no debió permanecer más de 15 a 20 min. Antes de proceder a sembrarla en la caja de Petri. Para inocular el agar se utilizó un hisopo estéril de algodón el cual se humedeció con la suspensión, se quita en el exceso de caldo presionando y girando el hisopo sobre la pared interna del tubo por arriba del nivel del caldo; se estrió en el medio en tres direcciones sobre la totalidad de la superficie del agar, para obtener un inóculo uniforme, se efectuó un último barrido del hisopo sobre el reborde de la caja de Petri y el agar. Cuando el inóculo se secó (de 3 a 5 minutos) se procedió a colocar los sensibilizadores. Los sensibilizadores se tomaron con pinza estéril y se colocaron en el medio en un tiempo menor de 15 min. después de haber inoculado la placa; los discos se presionaron ligeramente para asegurar un contacto con la superficie. Después de 15 min. de haber colocado los discos, se invirtió la caja de Petri y se puso a incubar a 35 °C. El tiempo de incubación fue de 16-18 hrs. La medición de los halos de inhibición fueron medidos usando una regla.

Conservación de cepas

Se prepararon tubos de ensayo de 10 ml con medios de cultivos BAB, posteriormente fueron esterilizados en autoclave por 15 min. a una temperatura de 121 °C y una presión

de 15 lbf/ui². Los tubos de ensayo una vez esterilizados se dejaron solidificar con una inclinación de 15°.

Con la finalidad de preservar las cepas identificadas para pruebas futuras, las cepas fueron inoculadas en tubos con medio de cultivo BAB. La inoculación fue llevada a cabo tomando el inóculo con una aza y se depositaron en el medio de cultivo haciendo un estriado.

Análisis estadístico

Los resultados del análisis bacteriológico se determinaron en forma de frecuencias. Los conteos de unidades formadoras de colonias (UFC) por tratamiento (luz ultravioleta, autoclave y cloruro de benzalconio) se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis. En el nivel de α máximo para aceptar diferencia estándar es de 0.05.

Resultados

Imagen 1. Conteo de unidades formadoras de colonias por muestro y animal. (A=antes de introducir el CIDR; D= retiro del CIDR; C= animal en celo; CDRn= Dispositivo nuevo; CIDR r1= Dispositivo reutilizado por primera vez; CIDR r2= Dispositivo reutilizado por segunda ocasión).

Grupo	# cabra	CDR n			CIDR r1			CIDR r2		
		A	D	C	A	D	C	A	D	C
1	4	1900	5100	1900	2300	12000	5200	3100	13500	5100
1	7	1700	9800	2200	1700	1900	2500	1900	11600	3600
1	14	3300	123000	3200	5100	15000	7200	4900	16300	4000
1	9	3200	14500	4300	4400	15300	5300	4300	16000	5300
1	8	3800	10300	5500	1600	3300	2100	4000	15300	2600
2	1	4200	9800	2600	3700	7900	4200	4300	10200	4000
2	11	3600	7500	3200	2200	6100	3300	4100	8200	5200
2	15	12300	18300	7100	2400	5900	2200	5400	9600	5100
2	3	1900	6600	4500	1100	1900	2500	2600	6800	3300
2	5	2800	10200	2000	3300	5000	3500	3600	11100	4200
3	13	4600	11200	3900	3900	6200	4200	4200	9600	4300
3	10	3100	14300	10400	5600	16000	8100	4600	18600	3600
3	6	1600	10100	7200	6100	12300	5200	5300	15800	6600
3	2	1100	10300	2300	2100	3900	2800	3600	16800	7100

Literatura citada

- Amiridis G. S., Cseh S. 2012. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Animal Reproduction Science* 130:152-161.
- Al-hamedawi T. M., Khammas D. J., Al-ubaidi A. S. 2003. Effect of estrus synchronization on vaginal flora and subsequent fertility in ewes. *Iraqi J Vet Sci* 16:73-79.
- Benavides G., J. 1983. Comportamiento reproductivo de un rebaño caprino en la parte central del estado de Chihuahua. Tesis profesional. FZUACH. Chihuahua, Chih.
- Carrillo E., Meza-Herrera C. A., Véliz F. G., 2010. Estacionalidad reproductiva de los machos cabríos de la raza Alpino-Francés adaptados al subtrópico Mexicano. *Rev.Mex. Cienc.Pecu.* 2: 169-178.

- Delgadillo J. A., Flores J. A., Véliz F. G., Duarte G., Vielma J., Poindrin P., Malpoux B., 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. *Vet.Mex.* 34: 70-79.
- De Santiago- Miramontes MA., Rivas-Muñoz R., Muñoz Gutierrez. M., Malpoux B., Scaramuzzi R. J., Delgadillo J. A., 2008. The ovulation rate in anoestrous female goats managed under grazing conditions and exposed to the male effect is increased by nutritional supplementation. *Anim.Rep.Sci.* 105: 409-416
- Duarte G., Flores J. A., Malpoux B., Delgadillo J. A. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. *DomestAnim Endocrinology.* 35: 362- 370.
- Dubeuf J. P., Morand-Fehr P., Rubino R. 2004. Situation, changes and future of goat industry around the world. *Small Ruminant Research* 51:165-173.
- Evans G. y W. M. Maxwell. 1990. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Edit. Acribia, Zaragoza. 192p.
- Lewis G. S. 2003. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reprod Biol Endocrinol* 1:117–124.
- Manes J., Florentino M.A., Kaiser G., Hozbor F., Alberio R., Sanchez E., Paolicchi F. 2010. Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Rumin Res* 94:201–204.
- Manes J., Ungerfeld R. 2015. Sincronización de celos en ovejas y cabras con dispositivos intravaginales liberadores de progestágenos: alteraciones en ambiente vaginal y su relación con la fertilidad. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 39:104-108.
- Partida P. J. A., Braña V. D., Jiménez S. H., Ríos R. F. G., Buendía R. G. 2013. Libro Técnico No. 3. Centro de Investigación Regional del Norte Centro INIFAP. Querétaro, México. 77p.
- Penna B., Libonati H., Director A., Sarzedas A. C., Martins G., Brandão F. Z., Fonseca J., Lilenbaum W. 2013. Progestin-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Elsevier* 142:71-74.
- Salinas-González H., Maldonado J. A., Torres-Hernández G., Triana-Gutiérrez M., Isidro-Requejo L. M., Meda-Alducin P. 2015. Compositional quality of local goat milk in the comarca Lagunera of Mexico. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas, XIV* 2:175-184.
- Scudamore C. L. 1988. Intravaginal sponge insertion technique. *Vet Rec* 123:554.
- Shallali A. A., Hussein A. M., Salih M. M., Dafalla E. A. 2001. A preliminary report on bacteria isolated from the female genital tract of Sudanese sheep and goats. *Sud J Vet Res* 17:55–63.
- Swart J. D., Lachman M., Westveer K., O'Neill T., Geary T., Kott R. W., Berardineli J. G., Hatfield P.G. Thomson J. M., Roberts A., Yeoman C. J. 2014. Characterization of the Vaginal Microbiota of Ewes and Cows Reveals a Unique Microbiota with Low Levels of Lactobacilli and Near-Neutral pH. *Veterinary Science* 1:10
- Wilson S., Gratz H. M., Hani S., Nezami E. 2010. Probiotics and gut health: A special focus on liver diseases, *World J. Gastroenterol.* 16 (4): 403:410.

Vargas L., S. y R. López T. 1991. Caprinos. Investigación en caprinos en el norte de México. Editorial UAAAN. Saltillo Coahuila, México.

VÁZQUEZ, J. y SUÁREZ, E. Characterization of indigenous vaginal lactobacilli from healthy women as probiotic candidates. *International Microbiology*. 11:261-266. 2008.

HÁBITAT POTENCIAL DEL MARLIN NEGRO, *Istiompax indica* (CUVIER, 1832) EN EL PACÍFICO ORIENTAL.

Manuel Jorge Correia-Aguiar¹, Raúl Pérez-González¹, Martin Hall², Luis Antonio Salcido-Guevara¹, Nerea Lezama-Ochoa², Jorge Saúl Ramírez-Pérez¹
Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Región Sur¹. mjcorreia.facimar@uas.edu.mx
Comisión Interamericana del Atún Tropical, La Jolla, California, EUA².

RESUMEN

Esta investigación parte de la descripción de las distribuciones espaciales de las especies de peces picos asociadas a la captura incidental en la pesquería de túnidos con red de cerco en el Pacífico Oriental (PO), extendidas en un área entre las longitudes de 70° a 150° Oeste y latitudes de 20° Sur a 30° Norte. El marlín negro, *Istiompax indica*, es una de las especies oportunistas del grupo de peces pelágicos mayores que forman parte de estas operaciones pesqueras. Existen diferentes modelos de distribución de especies, que predicen la distribución potencial de una especie en un área determinada dada una serie de variables ambientales, como MAXENT, basado en una aproximación estadística de máxima entropía. MAXENT utiliza para modelar la distribución de especies con sólo registros de presencia. Considerando la hipótesis sobre si existe una relación entre su distribución y los diferentes procesos oceanográficos, se plantea como objetivo, predecir su hábitat potencial utilizando los datos del programa de observadores (2005-2016) de la Comisión Interamericana del Atún Tropical. Las curvas de respuestas obtenidas así como la importancia de la permutación del análisis de contribución de cada variable ambiental considerando 9 escenarios, producto de la combinación cruzada de 5 variables ambientales y 3 indicadores de pesca (lances asociados a delfines, a objetos flotantes y en cardúmenes libres), mostraron cómo cada variable ambiental afectó la predicción de Maxent para *Istiompax indica* en el PO. Fueron difíciles de interpretar cuando las variables estuvieron fuertemente correlacionadas.

ABSTRACT

This research is based on the description of the spatial distributions of the pelagic fish species associated with the incidental capture in the tuna purse seine fishery in the Eastern Pacific (EP), extended over an area from 70° to 150° West longitudes and latitudes from 20° South to 30° North. The black marlin, *Istiompax indica*, is one of the opportunistic species of the group of major pelagic fish that are part of these fishing operations. There are different models of species distribution, which predict the potential distribution of a species in a given area under a series of environmental variables, such as MAXENT, which is based on a statistical approximation of maximum entropy. Maxent modeling was used for predicting potential distribution of species with only presence records. Considering the hypothesis on whether there is a relationship between its distribution and the different oceanographic processes, the objective is to predict its potential habitat using data from the observer program (2005-2016) of the Inter-American Tropical Tuna Commission. The response curves obtained as well as the importance of

the permutation of the contribution analysis of each environmental variable considering 9 scenarios, as result of the crossed combination of 5 environmental variables and 3 fishing indicators (sets associated with dolphins, floating objects and free tuna schools). The results also showed how each environmental variable affected the Maxent prediction for *Istiompax indica* in the PO. The values were difficult to interpret when the variables were strongly correlated.

I. INTRODUCCIÓN

El impacto de las pesquerías en la productividad de las poblaciones explotadas sigue siendo un tema de investigación muy controvertido en las ciencias pesqueras y biología evolutiva de los peces. Aunque muchos modelos cuantitativos suponen que los peces más grandes y fértiles son eliminados preferentemente por la pesca, no hay evidencia empírica que describa la relación entre la vulnerabilidad a la captura y la aptitud reproductiva individual en el medio silvestre (Sutter *et al.*, 2012; Musyl *et al.*, 2015). Hay un considerable desacuerdo sobre el estado actual de las poblaciones de los grandes peces pelágicos, siendo las especies de mayor riesgo los grandes predadores tope, entre ellos, los istiofóridos porque según sus historias de vida los hacen susceptibles a la sobreexplotación.

La mayoría de los peces picudos están ampliamente distribuidos en todos los océanos, ocupando una variedad hábitats, desde las zonas epipelágicas costeras hasta mares templados y tropicales. Ese amplio espectro de movimiento se debe a la carencia de barreras físicas que evitan la restricción de sus poblaciones a hábitats reducidos. El marlín negro, *Istiompax indica*, es uno de los peces óseos que logra alcanzar tallas hasta 700 kg en hembras adultas. Posee alta migración entre las regiones tropicales del océano Pacífico e Índico. Teniendo una gran importancia pesquera tanto comercial como recreativa (Collette *et al.*, 2006; Shimose *et al.*, 2008; Domeier y Speare, 2012; Chiang, *et al.*, 2015; Williams *et al.*, 2015).

Se han planteado diferentes hipótesis sobre las adaptaciones fisiológicas y tolerancias de los peces picudos a los diferentes procesos oceanográficos. Así, se considera que factores como la temperatura superficial del mar, los frentes oceánicos, la velocidad de las corrientes marinas, el oxígeno disuelto, la disponibilidad de presas y la abundancia de zooplancton, entre otros (Stramma *et al.*, 2012; Hinton, 2015; Ortega-García *et al.*, 2015), podrían ejercer una fuerte restricción en su abundancia y distribución a escala tanto espacial como temporal.

La escasez de datos en cuanto a la composición por edades, así como los errores obtenidos en los índices pesqueros y generalmente asociados al proceso de identificación de algunas especies, no han permitido hasta ahora una correcta evaluación de sus poblaciones, así como un manejo adecuado de los recursos. A pesar de la escasez de información, existe la necesidad de conducir evaluaciones preliminares con estatus relativos para considerar precautoriamente algunos puntos de referencia (Musyl *et al.*, 2015; Punt *et al.*, 2015; Pons *et al.*, 2017; CIAT, 2017).

El marlín negro, *Istiompax indica*, es una de las especies sugeridas debido a que nunca se ha realizado una evaluación completa de la población de esta especie en el océano Pacífico oriental (OPO) (Punt *et al.*, 2015; CIAT, 2017).

Los errores en la identificación de especies que son capturadas en una pesquería puede crear inexactitudes en las evaluaciones de población, con posibles efectos irreversibles por mal manejo del recurso (Bernard *et al.*, 2014). En el libro Rojo de especies amenazadas de la Unión Internacional para la conservación de la Naturaleza, (sus siglas en inglés IUCN), el marlín negro, *Istiompax indica*, aparece como una especie reseñada con datos insuficientes para entender las tendencias de los índices poblacionales (Collette *et al.*, 2011).

La dificultad para obtener información de áreas con especies escasamente estudiadas puede limitar la capacidad para generar programas que permita predecir cuáles especies o grupos de especies podrían obtener mejores resultados en proyectos de conservación o manejo de sus recursos (Morales, 2012). Existen diferentes modelos, llamados “modelos de distribución de especies” o “modelos de hábitat”, que predicen la distribución potencial de una especie en un área determinada dada una serie de variables ambientales (Elith *et al.*, 2011). Dentro de estos modelos, uno de los más utilizados y con mejor capacidad predictora, tanto en el ámbito terrestre como marino, es el modelo “Maxent”. Este modelo puede ser desarrollado con un software multiuso basado en una aproximación estadística llamada máxima entropía que permite hacer predicciones utilizando información incompleta, en este caso datos de presencia u ocurrencia de la distribución potencial de una especie (Phillips *et al.*, 2006; Phillips y Dudík, 2008). Es la distribución que potencialmente las especies logran abarcar a nivel biogeográfico. La distribución potencial de Máxima Entropía es útil en el análisis de especies indicadoras, invasoras o conservación (Peavey, 2010; Sequeira *et al.*, 2012)

Inicialmente, el programa computacional “Máxima Entropía” se desarrolló para estimar la distribución potencial de máxima entropía (DPME) en especies terrestres, y para analizar los efectos de la variación ambiental sobre dicha distribución (Phillips *et al.* 2006, Phillips y Elith, 2010; Elith *et al.*, 2011; Drake, 2015). Recientemente, MaxEnt está comenzando a ser utilizado para estimar la DPME en especies marino-costeras (Cervantes y Martínez, 2012; Hefley *et al.*, 2013) lo que conllevará, irremediablemente, a la utilización de registros históricos y actualizados para diferentes variables oceanográficas.

A pesar de que existe un amplia gama de modelos similares, Maxent posee tres ventajas por sobre los demás: Primero, se requiere solo datos de presencia, en contra de otros modelos que requieren datos de presencia y ausencia; segundo, aporta una mejor capacidad de predicción en comparación con otro métodos parecidos, especialmente con un número pequeño de muestras en comparación con otros métodos parecidos, especialmente con un número pequeño de muestras (Elith *et al.*, 2011; Phillips *et al.*, 2006); y tercero, su gratuita accesibilidad al programa informático con facilidad de manejo. Las pesquerías comerciales pueden alterar los ecosistemas marinos por remoción de especies con baja tasa de reproducción, alterando el espectro de las tallas y reduciendo la calidad del hábitat. Modelar la distribución de especies bajo escenarios de cambio climático permite determinar los cambios en su distribución y por lo tanto, anticiparse ante

las consecuencias de dichos cambios a nivel global (Cervantes y Martínez, 2012; Lezama-Ochoa *et al*, 2016).

El uso de DPME ha ido incrementándose en los últimos años. En el caso de las pesquerías de túnidos con red de cerco, algunos estudios han descrito la distribución de la fauna incidental asociada a los cardúmenes libres de atunes (Sequeira *et al.*, 2012; Lezama-Ochoa *et al*, 2016); sin embargo, aún no han sido aplicados en especies de peces picudos como *Istiompax indica*.

El uso del DPME en fauna capturada incidentalmente es un tema que puede brindar información de la ecología y distribución de especies pelágicas para implementar medidas de manejo y ajustar las actuales medidas precautorias que existen en algunas Organizaciones Regionales de Ordenación Pesquera (OROP).

III. HIPÓTESIS

La distribución potencial de la especie de captura incidental, marlín negro, (*Istiompax indica*) de la pesquería de túnidos tropicales con red de cerco en el océano Pacífico oriental (OPO), variaría en relación a los diferentes procesos oceanográficos.

IV. OBJETIVO GENERAL

Predecir las condiciones de un hábitat adecuado para *Istiompax indica* en el OPO con base a las observaciones en la pesquería de túnidos con red de cerco utilizando un modelo de distribución de especies, denominado MAXENT.

V. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar el esfuerzo (E) de pesca por: mes, año, zona, tipos de lance, por especies peces picos (Tabla I) en el OPO de 2005 a 2016.
- Determinar el índice de captura incidental (CIPL) de 2005 a 2016 por año, por especies de peces picos, por mes, por tipo de lance, por cuadrante.
- Delimitar la distribución espacial y/o temporal de las capturas incidentales y de las CIPL de las diferentes especies de peces pico en el OPO.
- Correlacionar la serie histórica de 2005 a 2016 de las CIPL con 4 variables ambientales de gran relevancia como predictores potenciales de distribución de hábitat: profundidad, temperatura superficial del mar, salinidad y producción primaria.
- Estimar la probabilidad de ocurrencia de las especies con base a la construcción de un modelo basado en variables ambientales, utilizando un programa de libre acceso, que combina estadística, máxima entropía y métodos bayesianos denominado "MAXENT".

VI. AREA DE ESTUDIO

El área de estudio comprende los lugares de pesca en el océano Pacífico oriental (OPO), dentro del Área de la Convención de la CIAT (2003a, 2012), donde han operado las diferentes flotas de buques atuneros cerqueros, entre 2005 y 2016, definida como la zona entre el litoral del continente Americano (Norte, Centro y Sudamérica) y la longitud 150°O, de los 35°N a los 25°S (Fig. 1). Con la finalidad de modelar las opciones espacio-temporales, las operaciones de pesca se dividieron en cuadrantes de 5° x 5° latitud/longitud.

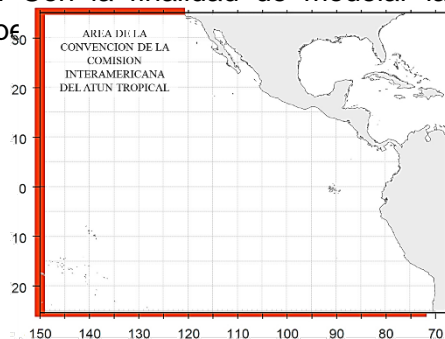


Figura 1. Mapa de la Distribución de Cuadrantes de 5°x5° ubicados dentro del Área de la Convención de la CIAT, definido por el Acuerdo sobre el Programa Internacional para la

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

Fuente de datos.

Los datos de captura incidental provienen de los ficheros de dominio público de su sitio en internet de la Comisión Interamericana del Atún Tropical, así como la información sobre los códigos usados y las normas aplicadas en la compilación y presentación de los datos (CIAT, 2003b; 2015; 2016a). Los archivos contienen datos de captura incidental de peces picudos por buques atuneros cerqueros con más de 363 toneladas métricas de capacidad de acarreo, provistos por los gobiernos miembros de la CIAT que han operado en el Pacífico oriental (OPO) durante 1993-2015, y registrados en el mar por observadores a bordo. Incluyen también datos sobre el número de lances, combinados por año, mes, pabellón o tipo de lance, y una resolución 1°x1° latitud/longitud. Así mismo, las capturas incidentales de peces picudos fueron registradas en número de individuos. En los documentos de la “Situación de la Pesquería de la CIAT” se presentan estimaciones de la captura incidental total de peces picos en el OPO (CIAT, 2017b). De conformidad con la política de confidencialidad de la CIAT, se agrupan los datos de países con menos de 3 buques o menos de 3 compañías en la categorías de otros (CIAT, 2015).

Procesamiento de los datos

La realización de un análisis exploratorio de los datos y de las estadísticas básicas descriptivas, generará estimaciones de captura que conformarán un inventario (Tabla I) de especies de peces picos por lance, que incluye: la cantidad total de organismos capturados por tipo de lance, como indicador de pesca según su tipo de asociación (asociados a delfines, asociados a objetos flotantes naturales o artificiales y lances asociados en cardúmenes libres), por mes y cuadrante de 2005 a 2016. Las estimaciones de captura se fundamentarán en un diseño que generaría un máximo de 424,116 valores de captura promedio.

El procesamiento de datos se hará a partir del año 2005, porque fue en ese año que la CIAT expandió la resolución taxonómica de la base de datos de captura incidental o “bycatch”. Este término ha tomado diferentes connotaciones según el juicio particular de algunos autores, siendo considerada en algunos casos, como la porción de la captura que se descartó muerta o se supuso que moriría como resultado de la operación de pesca (Davies *et al.*, 2009; Hall y Roman, 2013). En este caso, la captura incidental fue considerada como la captura fortuita de especies “no objetivo” a las que no va dirigido inicialmente el esfuerzo pesquero (Caddy y Griffiths, 1996).

La captura incidental por lance (CIPL) es definida como el promedio de los individuos retenidos en la bolsa de la red en cada lance (Hall y Roman, 2013). El esfuerzo (E) se expresará en número (N°) de lances; debido a que las embarcaciones cerqueras por su capacidad de acarreo están clasificadas según la CIAT, como pertenecientes a la clase 6 (>323 m³) (Bayliff, 1975).

La captura incidental por lance (CIPL) será expresada de la siguiente forma, (Correia, 2016), donde:

$$CIPL = \frac{\sum C_{z,s,y,m}}{\sum E_{z,s,y,m}} \quad (\text{Ec. 1})$$

CIPL = Captura incidental por lance.

CI = Número de organismos capturados incidentalmente

E = Número de lances totales efectuados (Esfuerzo)

Tabla I. Lista de códigos estándar ASFIS (Aquatic Sciences and Fisheries Information System) usados para las especies de peces picos capturados incidentalmente por los buques cerqueros que pescan bajo amparo de la CIAT en el Área de la Convención de Antigua. (Garibaldi y Busilacchi, 2002)

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	CÓD. ASFIS
Aguja, marlín, pez vela, otro	<i>Istiophoridae, Xiphiidae</i>	BIL
Marlín aguja negra	<i>Istiompax indica</i>	BLM
Marlín aguja azul	<i>Makaira nigricans</i>	BUM
Marlín rayado	<i>Tetrapturus audax</i>	MLS
Pez vela	<i>Istiophorus platypterus</i>	SFA
Marlín trompa corta	<i>Tetrapturus angustirostris</i>	SSP
Pez espada	<i>Xiphias gladius</i>	SWO

Para delimitar la distribución espacial de la captura de los peces pico se generarán mapas referenciales basados en hojas de cálculo de Microsoft Excel, simulando los formatos gráficos de información geográfica

Obtención de las variables ambientales

Para satisfacer la demanda de información oceanográfica, (en este caso satelital), hay varios portales de internet con datos de clorofila-a, temperatura superficial del mar, corrientes entre otros. Por ahora el único formato compatible con MaxEnt es el ASCII. Los datos obtenidos en otros formatos podrán ser tratados con programas “GIS” o “R” para su correcta y posterior utilización con MaxEnt.

Los portales “Bio-Oracle Web” (Tyberghein et al., 2011) y “Central Entropy Web” ofrecen gratuitamente información satelital en el formato ASCII; así como el portal “Ocean Color Web” (Cervantes, 2011; Cervantes y Martínez, 2012). Otros portales como “Aquamaps” (Kaschner et al, 2016) ofrecen la posibilidad de obtener datos bajo futuros escenarios climáticos.

Modelado del hábitat

El MaxEnt estima la probabilidad de distribución basada en capa de datos continuos o categóricos. El modelo implementa un algoritmo secuencial para encontrar una relación óptima entre las variables ambientales y la ocurrencia de especies basada en el principio de máxima entropía (Elith et al., 2011). Curvas de respuesta son generadas para analizar las respuestas de las especies al gradiente ambiental dado. Aunque MaxEnt puede construir relaciones complejas con las variables ambientales. Normalmente las relaciones más simples (lineales o cuadráticas) ayudan a una mejor interpretación al tratarse de especies con amplia distribución y movimiento (Lezama-Ochoa et al, 2016). Adicionalmente, este modelo ayuda a obtener una perspectiva general del hábitat estudiado con diferentes muestras y pocos predictores.

Antes del modelado, se revisó la correlación entre los predictores ambientales mediante un análisis de correlación de Spearman. Esta fase es importante para encontrar alguna

colinealidad entre las variables explicativas y así evitar falsas interpretaciones y sobre-estimación del modelo.

Validación del modelo.

La fase de validación del modelo es muy necesaria para evaluar el grado de predicción del modelo usando un grupo de datos independientes. El proceso más común es separar los datos en dos porciones. Un grupo se usó para ajustar el modelo (aprox el 80%) y se denominan como datos de entrenamiento, y la otra porción para validar predicciones con ocurrencias y pseudo-ocurrencias (son denominadas comúnmente “background” y generada automáticamente por el programa), llamados datos de prueba.

Evaluación del modelo

La evaluación del modelo se llevó a cabo calculando el Área Bajo la Curva (AUC: Area Under the Curve) que ofrece la capacidad del modelo para discriminar y predecir correctamente la distribución potencial. Valores obtenidos alrededor de 0.80-0.90 explican modelos con alta capacidad de precisión a la hora de predecir distribuciones. Maxent es una herramienta con varias aplicaciones y validada por diversos estudios científicos. Su uso ha estado acotado principalmente como una herramienta para la modelación de distribución de especies. Por el momento la integración de sus resultados con otras fuentes de información ha sido escasamente explorado (como la combinación en el uso de datos de marcado o datos históricos), pero los escasos estudios que han integrado múltiples variables han demostrado que es una herramienta con enormes potenciales en otras áreas.

A pesar de que MAXENT utiliza para modelar la distribución de especies con sólo registros de presencia, se usó la misma configuración pero modificando el tipo de variables ambientales y los indicadores de pesca para comparar posibles diferencias entre la precisión de los modelos resultantes.

Preliminarmente, se puede apreciar en la tabla II, que en los escenarios asociados a lances sobre delfines, la salinidad es el factor que más contribuye con la distribución potencial del marlín negro, ubicándose en la zona de la “alberca cálida” del OPO, debido a la alta evaporación el ambiente tiende a ser mas salino. Los escenarios asociados con los cardúmenes de atunes libres, están más relacionados con la distribución de la clorofila-a, siendo este un buen indicador de zonas de surgencias, como las de Perú, Galápagos o Domo de Costa Rica. Los escenarios relacionados con los lances a objetos flotantes, se observa que en las áreas de surgencias de la zona ecuatorial pasa a estar influenciada la termoclina, no solo por la temperatura, sino también por factores como la clorofila y el oxígeno disuelto en forma variable.

Tabla II. Importancia de la permutación del análisis de contribución de cada variable ambiental considerando los diferentes escenarios

VARIABLE	ESC.1	ESC.2	ESC.3	ESC.4	ESC.5	ESC.6	ESC.7	ESC.8	ESC.9
Chloro-a	45.8	37.7	35.8	3	3.1	46.3	49.9	37.7	40.6
TSM	16.3	47.5	-	39.7	-	42.8	-	39.5	-
ODS	22.1	-	49.3	-	48.6	-	39.1	-	34.9
Salinidad	10.6	11	11.3	55.6	47.2	5.9	7.7	15.1	15.2
Ph	3.7	3.4	1.5	0.9	0.8	3.9	2.3	5.8	7.9
Corrientes	1.4	0.4	2.1	0.8	0.2	1.1	0.9	1.8	1.3
	6 var	5varT	5varO	5varT	5varO	5varT	5varO	5varT	5varO
		ALL	ALL	DEL	DEL	OBJ	OBJ	NOA	NOA

IX. LITERATURA CITADA

- Bayliff, W. 1975. Organización, Funciones, y Logros de la Comisión Interamericana del Atún tropical. Scripps Institution of Oceanography. La Jolla, California, USA. 126pp.
- Bernard, A., M. Shivji, E. Prince, F. Hazin, F. Arocha, A. Domingo y K. Feldheim. 2014. Comparative population genetics and evolutionary history of two commonly mis- identified billfishes of management and conservation concern. *BMC Genetics* 15(1):141 doi:10.1186/s12863-014-0141-4.
- Davies, R., S. Cripps, A. Nickonson y G. Porter. 2009. Defining and estimating global marine fisheries bycatch. *Marine Policy*, 33(4), 661-672. doi:10.1016/j.marpol.2009.01.003
- Caddy, J. y R.C. Griffiths. 1996. Recursos vivos y su desarrollo sostenible: perspectivas institucionales y medioambientales. FAO Fish. Téc. Pap. (353). 191 pp.
- Cervantes-Hernández, P. 2011. Conversión de imágenes de satélite en formato HDF a Arc/Info ASCII. ASC, para su posterior utilización en el programa computacional MaxEnt. *Ciencia y Mar* 15 (44): 61-64.
- Cervantes-Hernández, P. y B. Martínez-Guerrero. 2012. Requerimientos técnicos para estimar la distribución potencial de máxima entropía con el programa computacional MaxEnt. *Ciencia y Mar*, XVI (48): 63-69
- Chiang, W.-C., M. K. Musyl, C.-L. Sun, G. DiNardo, H.-M. Hung, H.-C. Lin, S.-C. Chen, S.-Z. Yeh, W.-Y. Chen y C.-L. Kuo, 2015. Seasonal movements and diving behaviour of black marlin (*Istiompax indica*) in the northwestern Pacific Ocean. *Fisheries Research* 166:92-102 doi:http://dx.doi.org/ 10.1016/j.fishres.2014.10.023.
- CIAT. (Comisión Interamericana del Atún tropical). 2003a. Actas de la 70ª Reunión de Antigua (Guatemala). Disponible en: [http://www.iattc.org/PDFFiles2/Convencion de Antigua-Acta de decision.pdf](http://www.iattc.org/PDFFiles2/Convencion%20de%20Antigua-Acta%20de%20decision.pdf). 2 pág. (consulta, noviembre 2017).
- CIAT. (Comisión Interamericana del Atún tropical). 2003b. Resolución C-03-05. Resolución sobre provisión de datos. Antigua, Guatemala. 2pág. Disponible en: <http://www.iattc.org> (consulta, noviembre 2017).
- CIAT (Comisión Interamericana del Atún tropical). 2012. Mapa del océano Pacífico oriental (OPO). Disponible en: <http://www.iattc.org/EPOmap.htm> (consulta, 5 diciembre 2017).
- CIAT (Comisión Interamericana del Atún Tropical). 2015. Resolución C-15-04. Enmienda de la Resolución C-13-05 sobre Normas y procedimientos relativos a la confidencialidad de los datos. La Jolla, California, EUA. 2 pág. Disponible en: <http://www.iattc.org> (consulta, noviembre 2017).
- CIAT (Comisión Interamericana del Atún Tropical). 2016a. Archivos de datos de dominio público para descargar. La Jolla, California, EUA. Disponible en: <http://www.iattc.org/Catchbygear/IATTC-Catch-by-species1.htm> (consulta, 5 diciembre 2017).

CIAT (Comisión Interamericana del Atún Tropical). 2017. Documento SAC-08-10, actividades actuales y planeadas del personal de la CIAT. Octava reunión del Comité Científico Asesor. La Jolla, California, EUA. 21 pág.

CIAT (Comisión Interamericana del Atún Tropical). 2017b. Documento SAC-08-03a, Informe de la Pesquería de atunes y peces picudos en el océano Pacífico oriental en 2016. Octava reunión del Comité Científico Asesor. La Jolla, California, EUA. 52 pág. Disponible en: [https://www.iattc.org/Meetings/Meetings2017/SAC08/PDFs/SAC-08-03a-La-pesqueria-en-el-OPO 2016.pdf](https://www.iattc.org/Meetings/Meetings2017/SAC08/PDFs/SAC-08-03a-La-pesqueria-en-el-OPO%202016.pdf) (consulta, 8 mayo 2017).

Collette, B., A. Acero, C. Canales Ramirez, K. Carpenter, A. Di Natale, W. Fox, N. Miyabe, R. Montano Cruz, R. Nelson, K. Schaefer, R. Serra, C. Sun, Y. Uozumi y E. Yanez. 2011. *Istiompax indica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T170312A6742465. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T170312A6742465.en>

Correia, M. 2016. Captura de Túnidos de la Flota Cerquera Venezolana en el Pacífico y su Impacto en la Captura Incidental de Elasmobranquios de 2005 a 2012. Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, en el Área de Aprovechamiento Sustentable de los Recursos Pesqueros. Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Ciencias del Mar. Mazatlán. 119 pág.

Drake, J. 2015. Range bagging: a new method for ecological niche modelling from presence-only data. *Journal of The Royal Society Interface* 12(107) doi:10.1098/rsif.2015.0086.

Domeier, M. y P. Speare, 2012. Dispersal of adult black marlin (*Istiompax indica*) from a great barrier reef spawning aggregation. *PLoS ONE* 7(2):e31629 doi:10.1371/journal.pone.0031629.

Elith, J., S. Phillips, T. Hastie, M. Dudík, Y. Chee y C. Yates. 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions* 17(1):43-57 doi:10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x.

Garibaldi, L y S. Busilacchi. 2002. Lista ASFIS (Aquatic Sciences and Fisheries Information System) de especies para los fines de estadísticas de pesca. N°15. FAO. Roma. 258 pág

Hall, M. y M. Roman. 2013. Bycatch and non-tuna catch in the tropical tuna purse seine fisheries of the world. FAO, Fisheries and Aquaculture Technical Paper N° 568. Rome, FAO. 249 pág.

Hefley, T., D. Baasch, A. Tyre, y E. Blankenship. 2013 "Correction of location errors for presence-only species distribution models". *Papers in Natural Resources*. Paper 385. <http://digitalcommons.unl.edu/natrespapers/385>

Hinton, M. 2015. Oceanographic conditions in the EPO and their effects on tuna fisheries. IATTC: Stock Assessment Report 16. San Diego, EUA. 112 pág. Disponible en: www.iattc.org/PDFFiles2/StockAssessmentReports/SAR16/5-Oceanography.pdf

Kaschner, K., Kesner-Reyes, K., Garilao, C., Rius-Barile, J., Rees, T. y R. Froese. 2016. AquaMaps: Predicted range maps for Aquatic Species. World Wide Web Electronic Publication. Available online at: www.aquamaps.org, Version 8, 2016.

Lezama-Ochoa N, H. Murua, G. Chust, E. Van Loon, J. Ruiz, M. Hall, P. Chavance, A. Delgado De Molina y E. Villarino. 2016. Present and Future Potential Habitat Distribution

of *Carcharhinus falciformis* and *Canthidermis maculata* By-Catch Species in the Tropical Tuna Purse-Seine Fishery under Climate Change. *Front. Mar. Sci.* 3:34. doi: 10.3389/fmars.2016.00034

Morales, N., 2012. Modelos de distribución de especies: Software Maxent y sus aplicaciones en Conservación. *Revista Conservación Ambiental* 2(1):1-3.

Musyl M, D. Moyes, R. Brill, B. Mourato, A. West, L. McNaughton, W. Chiang y C. Sun. 2015. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 72:538-556, <https://doi.org/10.1139/cjfas-2014-0323>

NASA-GES-DISC. 2012. The Giovanni-3 climatology data portal. Goddard Earth Sciences DISC. NASA, Goddard Space Flight Center, Greenbelt, MD 20771. EUA. Disponible hasta 31 de marzo 2016 en: <http://gdata1.sci.gsfc.nasa.gov/daac-bin/G3>

Ortega-García, S., E. Camacho-Bareño y R.. Martínez-Rincón. 2015. Effects of environmental factors on the spatio-temporal distribution of striped marlin catch rates off Cabo San Lucas, Baja California Sur, Mexico. *Fisheries Research* 166:47-58 doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2014.09.007>.

Peavey, L. 2010. Predicting pelagic habitat with presence-only data using maximum entropy for Olive Ridley Sea Turtles in the eastern tropical Pacific (Doctoral dissertation, Duke University). 77pp

Phillips, S., R. Anderson y R. Schapire. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* 190(3–4):231-259 doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>.

Phillips, S. y J. Elith. 2010. POC plots: calibrating species distribution models with presence-only data. *Ecology* 91(8):2476-2484 doi:10.1890/09-0760.1.

Phillips, S. y M. Dudík. 2008. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography* 31(2):161-175 doi:10.1111/j.0906-7590.2008.5203.x.

Pons, M., T. Branch, M. Melnychuk, M., O. Jensen, O., J. Brodziak, J., J. Fromentin, J., S. Harley, S., A. Haynie, L. Kell, M. Maunder, A. Parma, V. Restrepo, R. Sharma, R. Ahrens y R. Hilborn. 2017. Effects of biological, economic and management factors on tuna and billfish stock status. *Fish Fish*, 18: 1–21. doi:10.1111/faf.12163

Punt, A., N.-J. Su y C.-L. Sun, 2015. Assessing billfish stocks: A review of current methods and some future directions. *Fisheries Research* 166:103-118 doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2014.07.016>.

Sequeira, A., C. Mellin, D. Rowat, M. Meekan y C. Bradshaw. 2012. Ocean-scale prediction of whale shark distribution. *Diversity and Distributions*, 18(5), 504-518.

Shimose, T., K. Yokawa, H. Saito y K. Tachihara, 2008. Seasonal occurrence and feeding habits of black marlin, *Istiompax indica*, around Yonaguni Island, southwestern Japan. *Ichthyological Research* 55(1):90-94 doi:10.1007/s10228-007-0004-3.

Stramma, L., E. Prince, S. Schmidtko, J. Luo, J. Hoolihan, M. Visbeck, W. Wallace, P. Brandt y A. Körtzinger. 2012. Expansion of oxygen minimum zones may reduce available habitat for tropical pelagic fishes. *Nat. Clim. Change* 2 (1),33–37.

Sutter, D., C. Suski, D. Philipp, T. Klefoth, D. Wahl, P. Kersten, S. Cooke y R. Arlinghaus. 2012. Recreational fishing selectively captures individuals with the highest fitness

potential. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 109(51): 20960–20965.
doi:10.1073/pnas.1212536109. PMID:23213220

Tyberghein, L., H. Verbruggen, K. Pauly, C. Troupin, F. Mineur y O. De Clerck. 2011. Bio-ORACLE: a global environmental dataset for marine species distribution modelling. Global Ecol. Biogeogr: 1-10. doi: 10.1111/j.1466-8238.2011.00656.x

Williams, S. M., J. G. Pepperell, S. W. Corley & J. R. Ovenden, 2015. Isolation and characterisation of 18 polymorphic microsatellite loci for black marlin (*Istiompax indica*) and their utility for Pacific billfish species. FISHERIES RESEARCH 166:29-32 doi:10.1016/j.fishres.2014.07.005.

Yackulic, C., R. Chandler, E. Zipkin, J. Royle, J. Nichols, E. Grant y S. Veran. 2013 Presence-only modelling using MAXENT: when can we trust the nferences? Methods in Ecology and Evolution 4(3):236-243 doi:10.1111/2041-210x.12004.

INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE EXTRACTO DE *Macleaya cordata* EN LA CARGA POR *Haemonchus* sp EN BECERROS AL INICIO DE LA ENGORDA

Melissa Belem Corona Palazuelos¹, Rubén Barajas Cruz¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Javier Alonso Romo Rubio¹

Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Colegio de Ciencias Agropecuarias.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa.

(corona_melissa@hotmail.com)

RESUMEN

Los nemátodos gastrointestinales representan un importante problema de salud a nivel mundial en el pastoreo de sistemas de producción de ovinos, caprinos y bovinos. *Haemonchus contortus* es el parásito nemátodo que mayor pérdidas económicas ocasiona, tanto en la salud como en la producción animal. Debido al incremento de la resistencia de los parásitos a los fármacos, se buscan alternativas para el control de los mismos, como los extractos de las plantas que contienen componentes antihelmínticos. El consumo de plantas con extracto de planta con alcaloides como es *Macleaya cordata* reduce la carga por nemátodos de rumiantes en pastoreo, sin embargo no hay información suficiente del uso de extractos de plantas en la cantidad de huevos eliminados en las heces ni en la viabilidad de larvas y adultos. El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de la adición de extracto de *Macleaya cordata* en la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus* sp en bovinos en engorda. Se usaron cepas de *Haemonchus* sp, las cuales se mantuvieron en refrigeración a 4°C. Se emplearon placas de ELISA de 96 pocillos y con ayuda de una micropipeta se adicionaron 150 µL que contenían 100 L₃ aproximadamente de *Haemonchus* sp. y se incubaron a una temperatura de 37 °C. Se asignaron aleatoriamente los siguientes tratamientos que fueron: 0, 0.5, 2.5, 5, 7.5, y 10 g/L de *Macleaya cordata* (MC) y se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento respectivamente. Los conteos de larvas se realizaron a las 24, 48 y 72 horas después de añadir los tratamientos. Los datos obtenidos se compararon por polinomios ortogonales y se analizaron por ANDEVA y se realizó la prueba de medias de Tukey. Se observó que las larvas infectantes mostraron una mortalidad del 100% ($P < 0.001$) a las 72 horas de añadir los tratamientos. Se concluye que la adición de *Macleaya cordata in vitro* disminuye la actividad infectante de larvas de *Haemonchus* sp en becerros al inicio de la engorda.

Palabras clave: *Macleaya cordata*, *Haemonchus* sp, nemátodos.

ABSTRACT

INFLUENCE OF THE ADDITION OF EXTRACT OF CORDATA *Macleaya* IN THE AMOUNT BY *Haemonchus* sp IN BECERROS AT THE BEGINNING OF THE FATTENING

Gastrointestinal nematodes represent a major health problem worldwide in the grazing of sheep, goat and cattle production systems. *Haemonchus contortus* is the nematode parasite that causes the greatest economic losses, both in health and in animal production. Due to the increased resistance of parasites to drugs, alternatives are sought for their control, such as extracts from plants that contain anthelmintic components. The consumption of plants with plant extract with alkaloids such as *Macleaya cordata* reduces the burden by nematodes of grazing ruminants, however there is insufficient information on the use of plant extracts in the amount of eggs eliminated in the faeces or in the viability of larvae and adults. The objective of this study was to evaluate the influence of the addition of *Macleaya cordata* extract on the viability of larvae and adults of *Haemonchus* sp in bovine animals. *Haemonchus* sp strains were used, which were kept under refrigeration at 4 ° C. 96-well ELISA plates were used and, with the help of a micropipette, 150 µL containing approximately 100 L3 of *Haemonchus* sp. and incubated at a temperature of 37 ° C. The following treatments were randomly assigned: 0, 0.5, 2.5, 5, 7.5, and 10 g / L of *Macleaya cordata* (CM) and three repetitions of each treatment were performed respectively. The larval counts were made at 24, 48 and 72 hours after adding the treatments. The data obtained were compared by orthogonal polynomials and analyzed by ANOVA and the Tukey test. It was observed that the infecting larvae showed a mortality of 100% (P <0.001) 72 hours after adding the treatments. It is concluded that the addition of *Macleaya cordata* *in vitro* decreases the infective activity of *Haemonchus* sp larvae in calves at the beginning of fattening.

Key words: *Macleaya cordata*, *Haemonchus* sp, nematodes

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que enfrentan los sistemas de producción animal son las enfermedades parasitarias, que provocan pérdidas económicas a la ganadería (Moreno *et al.*, 2010). Debido al incremento de la resistencia de los parásitos a los fármacos, se buscan alternativas para el control de los mismos, como los extractos de las plantas que contienen componentes antihelmínticos (Torres *et al.*, 2008). Las hojas, tallos, frutos, semillas y recientemente los extractos de plantas con dichas propiedades pueden ser utilizables (Játiva, 2011). La actividad antiparasitaria es apreciable en plantas que contienen metabolitos secundarios como son los alcaloides (Burt, 2004). En la familia *Papaveraceae* se encuentran una serie de plantas en las que su contenido de alcaloides como sanguinarina y queleritrina es elevado (Chytilová, 2012). Se sabe que estos compuestos tienen efecto antimicrobiano y antiinflamatorio (Jankowski *et al.*, 2009). Algunas papaveráceas han mostrado tener propiedades antivirales, antimicóticas, antitóxicas, antiparasitarias e insecticidas (Burt, 2004). Barajas *et al.* (2015) encontraron que con la adición de un extracto de la papaverácea *Macleaya cordata* se disminuyó la cantidad de huevos de *Haemonchus* sp en las heces de becerros al inicio de la engorda,

sin embargo no hay información suficiente del uso de extractos de plantas en la cantidad de huevos eliminados en las heces ni en la viabilidad de larvas y adultos. Esta investigación se orientará a evaluar la influencia de la adición de extracto de *Macleaya cordata* en la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus* sp en bovinos en engorda.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los nemátodos gastrointestinales afectan negativamente la salud de los bovinos en engorda, en los que ocasiona una disminución en la respuesta productiva y pérdidas económicas a los productores. Para el control de los nemátodos se utilizan una serie de fármacos, sin embargo, el aumento en la resistencia de los parásitos a estas sustancias plantea nuevos retos tanto a investigadores como productores para lograr su control y la disminución en la productividad de los bovinos en la engorda ocasionada por ellos.

HIPÓTESIS

La adición de extracto de *Macleaya cordata* disminuye la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus* sp en bovinos en engorda.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la influencia de la adición de extracto de *Macleaya cordata* en la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus* sp en bovinos en engorda.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar el nivel de extracto de *Macleaya cordata* necesario para disminuir la viabilidad de larvas de *Haemonchus* sp en bovinos en engorda.
- 2) Establecer la influencia de diferentes niveles de extracto de *Macleaya cordata* para disminuir la viabilidad de adultos de *Haemonchus* sp en bovinos en engorda.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación está constituida por dos experimentos. La fase de campo se realizó en el Rastro Municipal de Costa Rica, ubicado en la Sindicatura de Costa Rica en Culiacán, Sinaloa. Y la fase de Laboratorio se realizó en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa; en Culiacán, Sinaloa.

Experimento 1. Se usaron cepas de *Haemonchus* sp, que fueron donadas por la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán de la UNAM, mismas que se mantuvieron en refrigeración a 4°C para su conservación y posterior empleo (Alonso-Díaz *et al.*, 2011). Se emplearon dosis de 0.5, 2.5, 5, 7.5, y 10 g/L de *Macleaya cordata* (MC). Se tomó la dosis de 10 g/L para hacer la solución madre que fue preparada con 10% de alcohol y 90% de agua destilada y posteriormente de ahí obtener las demás dosis. El extracto de *Macleaya cordata* fue proporcionado en forma de Sangrovit-RS® (Phytobiotics; Eltville, Alemania). Se emplearon placas de ELISA de 96 pocillos y con ayuda de una micropipeta se adicionaron 150 µL que contenían 100 L₃ aproximadamente de *Haemonchus* sp. y se incubaron a una temperatura de 37 °C (Rialch *et al.*, 2013; Neuwirt *et al.*, 2015). Se asignaron aleatoriamente los siguientes tratamientos que consistieron en: 1) Sin la

adición de MC y 150 μ L de agua destilada (Testigo), 2) Adición de 150 μ L con la dosis de 0.5 g/L por pocillo de MC (M1), 3) Adición de 150 μ L con la dosis de 2.5 g/L por pocillo de MC (M2), 4) Adición de 150 μ L con la dosis de 5 g/L por pocillo de MC (M3), 5) Adición de 150 μ L con la dosis 7.5 g/L de MC (M4) y 6) Adición de 150 μ L con la dosis de 10 g/L por pocillo de MC (M5). Se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento respectivamente (Almeida *et al.*, 2013; Espinosa-Moreno *et al.*, 2016).

Para realizar el conteo de larvas se tomaron 20 μ L de cada tratamiento y se observaron en un microscopio óptico (Chicaiza-Tisalema *et al.*, 2016). Los conteos de larvas se realizó a las 24, 48 y 72 horas después de añadir los tratamientos (Espinosa-Moreno *et al.*, 2016) y posteriormente, se calculó el porcentaje de larvas vivas, dañadas y muertas (Monglo *et al.*, 2006). Las larvas dañadas y muertas se fijaron con formol al 10% y se depositaron en tubos eppendorf de 1.5 mL (Steffan *et al.*, 2002; Vázquez *et al.*, 2004; López *et al.*, 2013).

Análisis estadístico. Los datos obtenidos del conteo de larvas vivas, dañadas y muertas se compararon por polinomios ortogonales y fueron analizados por un ANDEVA para un diseño completamente al azar (Hicks, 1973) y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey. Se fijó un nivel máximo de $P \leq 0.05$ para aceptar diferencia estadística. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete computacional Statistix® 9 (2007).

Experimento 2. En el Rastro Municipal de Costa Rica se recolectaron 6 abomasos de borregos, los cuales se transportaron al Laboratorio de Parasitología para obtener los adultos de *Haemonchus* sp. Se colocaron 30 adultos de *Haemonchus* sp en cada caja de petri y se incubaron a una temperatura de 37°C. Se asignaron aleatoriamente los siguientes tratamientos: 1) Sin la adición de MC y 6 mL de solución salina (Testigo), 2) Adición de 6 mL con la dosis de 3.75 g/L por caja de MC (M1), 3) Adición de 6 mL con la dosis de 7.5 g/L por caja de MC (M2), 4) Adición de 6 mL con la dosis de 11.25 g/L por caja de MC (M3), 5) Adición de 6 mL con la dosis de 15 g/L por caja de MC (M4), 6) Adición de 6 mL con la dosis de 25 g/L por caja de MC (M5) y 7) Adición de 6 mL con la dosis de 50 g/L por caja de MC (M6). Para realizar el conteo de adultos vivos y muertos se observaron en un microscopio estereoscópico. Los conteos se realizaron a las 2, 4 y 6 horas después de añadir los tratamientos y se calculó el porcentaje de adultos vivos, dañados y muertos. Los adultos dañados y muertos se fijaron con formol al 10% y se depositaron en tubos eppendorf de 1.5 mL (Steffan *et al.*, 2002; Vázquez *et al.*, 2004; López *et al.*, 2013).

Análisis estadístico. Los datos obtenidos del conteo de adultos vivos, dañados y muertos se compararán por polinomios ortogonales y fueron analizados por un ANDEVA para un diseño completamente al azar (Hicks, 1973) y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey. Se fijó un nivel máximo de $P \leq 0.05$ para aceptar diferencia estadística. Todos los análisis estadísticos se realizarán con el paquete computacional Statistix® 9 (2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que las larvas infectantes mostraron una mortalidad de 0% con el extracto de *Macleaya cordata* a las 0 horas y conforme transcurrió el tiempo de exposición, el mayor

porcentaje de mortalidad ocurrió a las 72 horas con el 100% ($P < 0.001$) de larvas muertas con la dosis más elevada (Figura 1).

Esta información coincide con el trabajo realizado por Jia-Yun Yao *et al.*, (2010) donde trabajaron con un parásito de los más patógenos en peces, donde utilizaron diferentes dosis pero la más efectiva resultó ser la de 0.7 mg/L que mostró un efecto antiparasitario de 100% después de 4 horas de exposición con este extracto de *Macleaya cordata* que es Sanguinarina. De igual manera este extracto causó daños muy evidentes provocando alteraciones severas en la estructura de las diferentes etapas del parásito, así mismo, la membrana celular externa se destruyó, el macronúcleo fue invisible, los cilios no pudieron ser reconocidos, lo que se puede comparar con un efecto similar en las larvas de *Haemonchus* sp donde se apreciaba desprendimiento de la cutícula en la región cefálica, caudal y una disminución en la motilidad y en la capacidad para enrollarse a diferencia de los testigos que presentan todas sus estructuras en perfectas condiciones en ambos trabajos.

Figura 1. Descripción gráfica del efecto de los tratamientos con el extracto de *Macleaya cordata* a las diferentes horas de exposición.

Figura 2. Descripción gráfica de la mortalidad en respuesta a las diferentes dosis utilizadas de *Macleaya cordata*

De acuerdo a las dosis establecidas de 0.5, 2.5, 5, 7.5 y 10 de *Macleaya cordata* se puede observar en la Figura 2. que hay un aumento ($P < 0.001$) del porcentaje de mortalidad en relación a los tratamientos, por lo que se manifiesta de manera lineal ya que a medida que se incrementó la cantidad de *Macleaya cordata*, se puede apreciar mayor daño en las larvas y un aumento en el porcentaje mortalidad. Es escasa la información relacionada con la adición de distintos niveles de *Macleaya cordata* en la actividad parasitaria de larvas y adultos de *Haemonchus* sp.

CONCLUSIÓN

Estos resultados siguen una alternativa sustentable para el control de las enfermedades parasitarias ocasionadas por nemátodos principalmente como *Haemonchus* sp. La adición de *Macleaya cordata in vitro* disminuye la actividad infectante de larvas de *Haemonchus* sp en becerros al inicio de la engorda.

LITERATURA CITADA

- Almeida G.D., Feliz D.C., Heckler R.P., Borges G.L., Onizuka M.K.V., Tavares L.E.R., Paiva F., Borges A. 2013. Ivermectin and moxidectin resistance characterization by larval migration inhibition test in field isolates of *Cooperia* spp. In beef cattle, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Vet. Parasitol.* 191: 59-65.
- Alonso-Díaz, M. A., Torres-Acosta J.F.J., Castro-Sandoval C.A., Hoste H. 2011. Comparing the sensivity of two in vitro assays to evaluate the anthelmintic activity of tropical tannin rich plants extracts against *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 181: 360-364.
- Beserra L.M., Leal C. M., Maia S., Fernandes A. L., Freitas L. T. 2011. Plantas taaniníferas e o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. *Ciencia Rural* 41: 1967-1974.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94:223– 253.
- Chicaiza-Tisalema, E., Barros-Rodríguez M., Zurita-Vásquez H., Mera-Andrade R., Velástegui-Espín G., Muñoz-Espinoza M., Espinoza-Vaca S., Ortiz-Tirado P., Ibarra-López E. 2016. Efecto antihelmíntico in vitro del extracto de *Albizia lophantha* sobre nematodos gastrointestinales de caballos. *Rev. Inv. Vet. Perú* 27: 556-560.
- Chytilová, K., Galandáková A., Pazdera J., Rajnochová S.A., Simánek, V. 2012. Effect of *Macleaya Cordata* (Willd)R.Br. Extract on Expression of Inflammatory Markers and Oxidative Stress in Gingival Fibroblasts. *Ceská Stomatologie Roc.* 2:47-56
- Corona, M.B. 2015. Influencia de la adición de extracto de taninos en la carga por nematodos en becerros recién llegados al corral de engorda. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- Egualé, T., Tadesse D., Giday M. 2011. *In vitro* anthelmintic activity of crude extracts of five medicinal plants against egg-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. *J. Ethnop.* 137: 108-113.
- Espinosa-Moreno, J., Centurión-Hildago D., Vera y Cuspinera G., Pérez-Castañeda E., Zaragoza-Vera C.V., Martínez-Martínez S., Mendoza-de-Gives P., González-Cortázar M. 2016. Actividad antihelmíntica in vitro de tres especies vegetales utilizadas tradicionalmente en Tabasco, México. *Polibotánica*, 41: 91- 100.
- González-Garduño R., López-Arellano M.E., Ojeda-Robertos N., Liébano-Hernández E., Mendoza-de Gives P. 2014. Diagnóstico *in vitro* y en campo de resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de pequeños ruminantes. *Arch. Med. Vet.* 46: 399-405.
- Hicks, C.R. 1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Reinhart and Wiston, New York.
- Játiva, S.D. 2011. Determinación del contenido de tanino procedente del guarango (*Caesalpinia spinosa*) y evaluación de su uso como fungicida. Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador.
- Jankowski, J.; Zdun´czyk, Z.; Jus´kiewicz, J.; Kozłowski, K.; Lecewicz, A.; Jeroch, H. 2009. Gastrointestinal tract and metabolic response of broilers to diets with the *Macleaya cordata* alkaloid extract. *Archiv fur Geflugelkunde.* 73, 95–101.

- Jia-Yun Y., Jin-Yu S., Xi-Lian L., Yang X., Gui-Jie H., Xiao-Yi P. 2010. Effect of sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitol. Research*. Pag.1035
- Sandoval, E., Morales G., Ybarra N., Barrios, M., Borges, J. 2011. Comparacion entre dos modelos diferentes de cámaras de McMaster empleadas para el conteo coproscópico en el diagnóstico de infecciones por nemátodos gastroentéricos en rumiantes. *Zootecnia Trop* 29: 495-501.
- Moreno, F.C., Gordon I.J., Wright A.D., Benvenuti M.A., C.A. Saumell C.A. 2010. Efecto antihelmíntico in vitro de extracto de plantas sobre larvas infectantes de nematodos gastrointestinales de rumiantes. *Arch Med Vet* 42: 155-163.
- Torres, A.J.F., Alonso M.A., Hoste H., Sandoval C.A., Aguilar A.J. 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 9: 83-90.
- Kamaraj, C., A., Rahuman A. 2011. Efficacy of anthelmintic properties of medicinal plant extracts against *Haemonchus contortus*. *Res. Vet. Sci.* 91: 400-404.
- Monglo, D., Njongmeta L.M., Musongong G., Ngassoum M., Nukenine N. 2006. Evaluation of anthelmintic potential of ethanolic plant extracts from northern Cameroon against eggs and infective larvae of *Haemonchus contortus*. *J. Biol. Sci.*, 6: 426-433.
- Pérez-Pérez, C., Hernández-Villegas M.M., De la Cruz-Burelo P., Hernández-Bolio G.I., Bolio-López G.I. 2014. Efecto antihelmíntico in vitro del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. *Trop. Subtrop. Agro.* 17: 105-111.
- Statistix. 2007. *Statistix User's Manual*, Release 9.0. Analytical Software, Tallahassee, FL.

EVALUACIÓN DE LOS REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y LÍPIDOS TOTALES DE JUVENILES DE ROBALO BLANCO *CENTROPOMUS VIRIDIS*.

Samuel Angiee Ayón Jiménez¹, Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca¹, María Isabel Abdo de la Parra², Luz Estela Rodríguez Ibarra², Miguel Ángel Hurtado Oliva¹, Asahel Benítez Hernández¹. Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. samuel_facimar@uas.edu.mx. ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C., Unidad Mazatlán.

INTRODUCCIÓN

El género *Centropomus* cuenta con 12 especies distribuidas en las costas tropicales y subtropicales del Pacífico y del Atlántico americanos (Sandoval-Castellanos *et al.* 2005). Los róbalos son peces carnívoros y eurihalinos. Tienen el potencial para la acuicultura ya que se adaptan al confinamiento y pueden ser alimentados con alimento balanceado (Vanacor *et al.* 2002). El cultivo de robalo blanco *Centropomus viridis* se encuentra actualmente en México en fase experimental, por lo que es necesario conocer todos los aspectos en cada etapa de su ciclo biológico, por este motivo determinar los requerimientos nutricionales de juveniles en cultivo es un paso esencial para garantizar su supervivencia y desarrollo; en ese sentido, la nutrición acuícola es un factor determinante en el crecimiento, en la función del sistema inmune y en la resistencia a enfermedades de los organismos (Webster y Lim, 2002). La proteína dietética es un nutriente primordial que afecta el crecimiento de los peces y el costo de los alimentos (Arredondo-Figueroa *et al.* 2012) y los lípidos dietéticos juegan un papel valioso como fuente de energía y de ácidos grasos esenciales necesarios para el crecimiento y desarrollo de los peces (Kim *et al.* 2012). Estudios anteriores en otras especies de peces, han encontrado que la inclusión de niveles adecuados de proteína y lípidos totales en las dietas prácticas, es decisivo para la óptima utilización de estos macronutrientes, así como determinantes en su crecimiento y sobrevivencia. Perez-Velazquez *et al.* (2015) probaron tres niveles de proteína (40, 45 y 50%) y tres niveles de grasa (8, 12 y 16%) en juveniles de corvina del Golfo (*Cynoscion Othonopterus*), encontrando que 40% de proteína fue suficiente para promover un crecimiento adecuado para esta especie. Teng *et al.* (1978) reporta de manera similar que los juveniles de mero de estuario *Epinephelus salmoides* no presentaron diferencias significativas en crecimiento cuando fueron alimentados con 40% y 50% de proteína. Abdo de la Parra *et al.* (2010) encontró que juveniles de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), con un peso inicial de 2,2 g, pueden ser alimentados con dietas que contengan 45 a 50% de proteína y 9 a 12% de lípidos para obtener buen rendimiento de crecimiento, supervivencia, factor de condición y tasa de conversión alimenticia. Jian *et al.* (2015) informan que juveniles de mero híbrido (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) alimentados con dietas que contenían 40%, 45%, 50% o 55% de proteína cruda, y con 7%, 10% o 14% de lípidos crudos, obtuvo con la inclusión de 40% de proteína menor ganancia de peso y un factor de conversión alimenticia significativamente más alto, sin embargo en los otros niveles de proteína no se observó

diferencia, la inclusión del 7% de lípidos obtuvieron un índice de eficiencia proteica significativamente mayor. El robalo blanco (*C. undecimalis*) es un pez carnívoro marino tropical que se alimenta de grandes cantidades de peces y camarones y, por consiguiente, crece bien en un amplio rango de proteína dietética. Una proporción de proteína/energía óptima permite al animal utilizar la cantidad máxima de proteína para estar disponible para el crecimiento minimizando la cantidad usada para la energía (Gracia-Lopez *et al.* 2003). Por tal motivo es indispensable determinar los niveles adecuados de cada uno de estos macro nutrientes en la dieta para juveniles de robalo *C. Viridis*, el efecto que tienen por sí mismos y los efectos en la interacción de cada uno de estos niveles en relación con crecimiento, supervivencia, eficiencia alimenticia y parámetros hematológicos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En general, todas las especies de róbalo son consideradas de alto valor económico, debido al sabor de su carne y al tamaño que alcanzan en la etapa adulta; *Centropomus viridis* (Lockington, 1877) llega a medir hasta dos metros de longitud aunque su talla comercial es de 60 cm (Labastida-Che *et al.* 2013). El robalo por su volumen se encuentra posicionado en el lugar 16 de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor, lo encontramos en el lugar 7 (CONAPESCA, 2017). Hasta la fecha, no hay antecedentes publicados sobre los requerimientos nutricionales de *Centropomus viridis*, en particular de los macro nutrientes proteína y lípidos totales en condiciones de cultivo. Sin embargo, hay datos no publicados de un bioensayo anterior, llevado a cabo en CIAD A. C. Unidad Mazatlán donde se probaron niveles más altos de proteína (40%, 46%, 52% y 58%) y lípidos (10% y 13%) en la dieta de *C. Viridis*, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros evaluados, sirviendo esta información como base para definir los niveles de estos macro nutrientes para la formulación de las dietas a probar en el presente trabajo. En ese sentido, se requiere establecer los niveles mínimos deseables de dichos componentes en esta especie, para poder formular dietas prácticas específicas para este pez y de esta manera contribuir al desarrollo de la biotecnología del cultivo e impulsar el desarrollo de la maricultura de nuestro país.

HIPÓTESIS

Los juveniles de róbalo *Centropomus viridis* no presentan diferencias significativas en su crecimiento, evaluado como ganancia de peso y eficiencia alimenticia con dietas niveles de inclusión de proteína de 30 a 42% y 10 o 13% de lípidos.

Objetivo general

- Evaluar el efecto de diferentes niveles de proteína y lípidos en la dieta sobre el crecimiento, eficiencia alimenticia, supervivencia y parámetros hematológicos de juveniles de robalo blanco (*Centropomus viridis*).

Objetivos particulares.

1. Determinar el nivel óptimo de proteína en la dieta para el crecimiento y supervivencia de juveniles de robalo blanco (*C. viridis*).
2. Determinar el nivel óptimo de lípidos en la dieta para el crecimiento y

- supervivencia de juveniles de robalo blanco (*C. viridis*).
3. Evaluar el efecto de la interacción diferentes niveles de proteína y lípidos en la dieta en la eficiencia alimenticia del robalo blanco (*C. viridis*)
 4. Evaluar el efecto de diferentes niveles de proteína y lípidos en la dieta sobre diferentes índices hematológicos y morfológicos de los organismos experimentales.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Localización del área de trabajo.

El presente trabajo se realizará en las instalaciones del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), unidad Mazatlán A. C.

Diseño experimental.

Se formularán 8 dietas prácticas con cuatro niveles de proteína (30, 34, 38 y 42%) y dos niveles de lípidos cada una (10 y 13%) abreviadas como P30/L10, P30/L13, P34/L10, P34/L13, P38/L10, P38/L13, P42/L10, P42/L13 respectivamente con tres replicas por cada dieta. En cada tanque se colocarán 20 juveniles de robalo blanco con un peso promedio aproximado de 18 ± 1 g y cada tratamiento se evaluará por triplicado. La distribución de los tratamientos se realizará al azar y los tanques se marcarán para su identificación.

Elaboración de dietas experimentales.

Como fuente proteica se utilizará harina de pescado, harina de krill, de ave y cerdo y como fuente de lípidos se utilizará aceite de pescado. Las premezclas de minerales y vitaminas se mantendrán constantes en las dietas al igual que el alginato. Las dietas experimentales se elaborarán en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Los ingredientes se molerán finamente mediante un molino de martillos de marca Micron. Se pesarán de acuerdo a la formulación y se mezclarán en una batidora Kitchen Aid de 5 litros. Primeramente se mezclarán las harinas y posteriormente se tomará una porción de esta mezcla para adicionar las premezclas de vitaminas y minerales y el alginato, el resto de la mezcla se irá añadiendo lentamente con el fin de homogeneizar toda la mezcla, después se añadirá el aceite de pescado y finalmente se agregará agua. Se peletiza por medio de un molino de carne Torrey utilizando un dado de 3/8 y los pelets se colocarán en charolas para ponerlos en el secador a 40° C durante 12 horas. Los pelets secos se colocarán en recipientes herméticos previamente etiquetados y se refrigerarán hasta su utilización en el experimento.

Descripción de la sala experimental.

El área donde se llevará a cabo el experimento cuenta con 24 tanques cilíndricos de fibra de vidrio color negro con una capacidad de 600 l, cada uno con un drenaje central de 50 mm, cubierto con malla de 0.51 cm. para evitar la salida de los peces y a la vez permitir la limpieza de los tanques (Figura 1). Cada tanque cuenta con aireación y flujo de agua continuo (6 L min.^{-1} aproximadamente), con regulación según sea necesario. El agua de mar es bombeada desde playa las brujas Mazatlán y pasada a través de filtros de arena y de cartuchos de 16 micrómetros de retención relativa.

Origen de los organismos.

Para realizar este experimento se utilizarán juveniles de robalo de tres meses de edad procedentes del criadero de larvas en las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo Unidad Mazatlán.

Selección de los organismos.

La separación por tamaño se realizará tomando el peso individual de cada organismo, con el fin de conocer la frecuencia de las diversas tallas, distribuirlos homogéneamente y obtener un peso promedio igual en cada tanque.

Alimentación

El alimento se ofrecerá a los organismos de cada tanque de forma manual tres veces al día (8:00, 12:00 y 16:00 h), ofreciéndolo poco a poco hasta saciedad aparente de los organismos. Diariamente se limpiará el fondo de los tanques para eliminar restos de alimento y desechos orgánicos de los peces y registrará el consumo de alimento de los peces.

Parámetros fisicoquímicos.

Diariamente se registrará la temperatura y el oxígeno. Cada semana se determinará el amonio presente en el agua bajo la NOM-SEMARNAT-001-SCFI-1996, por el laboratorio de Química y Productividad Acuática del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán.

Evaluación biológica.

El muestro de los peces se realizará al inicio del experimento y posteriormente cada 14 días, se pesarán y mediarán cada uno de los organismos previamente anestesiados con esencia de clavo para determinar la tasa de crecimiento (TC), consumo de alimento (CA), tasa de conversión alimenticia (TCA) y tasa de supervivencia (S), mediante las siguientes fórmulas:

Peso ganado (incremento): $PG = \text{peso promedio final} - \text{peso promedio inicial}$.

- Tasa de Crecimiento: $TC = \text{peso ganado} / \text{peso inicial promedio} \times 100$
- Tasa de Crecimiento Específica: $TCE = 100 \times (\ln \text{ de peso en ese tiempo} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{tiempo}$
- Supervivencia: $\%S = \text{No. final} / \text{No. Inicial} \times 100$
- Tasa de Conversión Alimenticia: $TCA = \text{Alimento consumido} / \text{peso ganado}$

Al final del experimento se determinará:

- Tasa de Eficiencia Alimenticia: $TEA = \text{Peso ganado} / \text{alimento consumido}$
- Índice de Eficiencia Proteica: $PER = \text{Incremento de peso} / \text{consumo de proteína}$.
- Factor de condición: $K = [(\text{Peso final} / (\text{Largo total})^3)] \times 100$.
- Índices hematológicos.
(Hematocrito, Proteína, Hemoglobina, Triglicéridos, Glucosa)

- Índice hepatosomático (IHS)
$$IHS = \frac{\text{Peso de hígado (g)}}{\text{Peso total del cuerpo (g)}}$$

Análisis de los ingredientes, dietas experimentales y peces.

Cada una de las dietas y peces se analizará mediante el método de análisis proximal, incluye determinación del contenido de humedad 4.1.06, cenizas 32.1.05, lípidos 4.5.05 y proteína 12.1.07 descrito por la AOAC (2000). Para analizar la carcasa de los peces, al inicio del experimento se tomarán diez peces al azar como muestra del lote total de organismos que se utilizarán para el bioensayo, al final de éste se tomarán 3 peces al azar por tanque, es decir nueve por tratamiento. Se secarán y se molerán hasta obtener una mezcla homogénea, para enseguida realizar los análisis proximales.

Análisis estadístico:

Los datos en porcentaje (supervivencia, tasa de crecimiento específica y factor de condición) se transformarán en arco-seno para homogenizar las varianzas. Antes de realizar el análisis estadístico se verificará la normalidad y homogeneidad de los resultados obtenidos, al ser datos paramétricos se someterán a un análisis de varianza factorial (P<0.05), ANOVA de dos vías mediante el programa Statistica 6. Si se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicará una prueba de rango múltiple de Duncan (P<0.05).

LITERATURA CITADA

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, Vol.1 17th Ed. Association of Official analytical Chemists, Arlington, USA. 684p.

Abdo de la Parra, Ma & Estela Rodríguez-Ibarra, L & Hernández, Crisantema & Hernández, Karina & González-Rodríguez, Blanca & Martínez, Irma & García-Ortega, Armando. (2010). *Efecto de diferentes niveles de proteína y lípidos totales en la dieta sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de pargo lunarejo Lutjanus guttatus*. Revista de biología marina y oceanografía. 45. 433-439. 10.4067/S0718-19572010000300008.

Castillo RE, Torres MA, Hurtado GH, Gómez RE (2014) *Efecto del nivel de proteína cruda en la dieta sobre el crecimiento y excreción de nitrógeno amoniacal de Carassius auratus (Cyprinidae) Linnaeus (1758) bajo condiciones de laboratorio*. Revista Universidad Militar de Nueva Granada 11: 1 34-37.

CONAPESCA. 2017. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2017.

<https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca> (Consulta, Enero 2019)

De Silva SS, Gunasekera RM, Shim KF (1991) *Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: Evidence of protein sparing*. Aquaculture 95: 305-318.

Gracia-López V, T García-Galano, G Gaxiola-Cortés y J Pacheco-Campos. 2003. *Efecto del nivel de proteína en la dieta y alimentos comerciales sobre el crecimiento y la alimentación en juveniles del robalo blanco, Centropomus undecimalis (Bloch, 1792)*. Ciencias Marinas 29 (4B): 585-594

- Jiang, Shuntian & Wu, Xiaoyi & Li, Weifeng & Wu, Mingjuan & Luo, Yuan & Lu, Senda & Lin, Haoran. (2015). Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization, body and plasma biochemical compositions of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂×*Epinephelus fuscoguttatus* ♀) juveniles. *Aquaculture*. 446. 148-155. 10.1016/j.aquaculture.2015.04.034.
- Kim K, S Lim, Y Kang, K Kim and H Son. 2012. *Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile Far Eastern Catfish Silurus asotus*. *Asian-aust. J Anim. Sci.* 25(3): 369-374.
- Labastida-Che A., AL Nuñez-Orozco, y JA Oviedo-Piamonte. 2013. *Aspectos biológicos del robalo hocicudo Centropomus viridis, en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México* *Ciencia Pesquera* 21(2): 21-28
- Perez Velazquez, Martin & González-Félix, Mayra & Viana, Maria teresa & Lazo, Juan & Maldonado Othón, Carlos A.. (2015). *Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of the Gulf corvina, Cynoscion othonopterus*. *International Journal of Aquatic Science*. 6. 2008-8019.
- Sandoval-Castellanos, Uribe-Alcocer, Díaz-Jaimes. 2005. *Diferenciación Genética Poblacional en Robalos (Pisces: Centropomidae) del Pacífico Mexicano*, *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21 (Supl. 1) 35-41, 2005.
- Teng, S-K., Chua, T-E. and Lim, P-E. (1978). *Preliminary observation on the dietary protein requirement of estuary grouper, Epinephelus salmoides Maxwell, cultured in floating net-cages*. *Aquaculture* ,15: 257–271.
- Vanacor, M.; Carvalho, J.; Pierângeli, C.; Helmer, J. 2002. *Valor nutritivo de alguns ingredientes para o robalo (Centropomus parallelus)*. *Revista Brasileira de Zootecnia* 31(6):2157-2164.
- Webster C. D. and C. Lim. 2002. *Nutrient requirements and feeding of finfish for aquaculture*. Cambridge Ma, USA: Cabi Publishing USA. 418 p.

POBLACIONES DEL GUSANO DE LA CÁPSULA EN GARBANZO DE SINALOA: IDENTIFICACIÓN, EVALUACIÓN DE DAÑO Y MODELO DE PRONÓSTICO.

Guadalupe Ascención Betanzos¹, Carlos Alfonso López Orona², Moisés Gilberto Yáñez Juárez³, Guadalupe Alfonso López Urquidez⁴, Raymundo Medina López⁵ y Edgardo Cortez Mondaca⁶.

¹Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, gpe.ascencion@gmail.com, ²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, clopezorona@uas.edu.mx, ³Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, moisesyj@uas.edu.mx, ⁴Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, alfonsolopezurquidez@uas.edu.mx, ⁵Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, raymedinalop@gmail.com, ⁶Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, cortez.edgardo@inifap.gob.mx.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del garbanzo en México al cierre del ciclo 2017 alcanzó un valor de la producción de 3,394,125.08 miles de pesos. El garbanzo es una leguminosa rica en proteínas (18-25%), considerado dentro de los alimentos sostenibles encaminados a lograr la seguridad alimentaria y la nutrición mundial. En México el consumo del garbanzo ha sido limitado, alcanzando un consumo anual per cápita de 81 gramos, sin embargo el principal destino de la producción nacional está dirigido a Europa y países del medio oriente (Aguilar y Vélez, 2013; ONU, 2013; Larios, 2017, SIAP, 2017; SIAP, 2019).

Los principales estados productores de garbanzo en México, se encuentran en la región del Noroeste del país, en los estados de Baja California Sur, Sinaloa y Sonora, con una aportación de más del 70 % de la producción a nivel nacional, y en el Bajío en los estados de Michoacán y Guanajuato, que contribuyen con cerca del 20 % de la producción; la producción restante, se distribuye en entidades como Nayarit, Jalisco, entre otras. A nivel nacional, Sinaloa es el principal estado productor de garbanzo en México, con 44, 602.3 Ha sembradas al cierre agrícola del ciclo 2017, lo que representa el 44.78% de la superficie sembrada a nivel nacional (SIAP, 2019).

El gusano de la cápsula es la principal plaga del cultivo de garbanzo debido al daño que origina, pues disminuye el rendimiento y la calidad del grano, generando pérdidas económicas significativas, es una plaga conformada por las especies *Helicoverpa zea* y *Heliothis virescens*. En el norte de Sinaloa se ha observado que *H. virescens* predomina en el cultivo de garbanzo en un 100%, pero no se descarta la presencia de *H. zea*, u otras especies de *Heliothis* (INIFAP, 2017; Cortez, 2018).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Ante el cambio climático, estudios advierten una tendencia hacia la reducción en el periodo de incubación de algunas plagas, así como un incremento en el número de

generaciones de plagas relacionadas a un mayor número de unidades calor, se advierte que se tendrán mayores problemas en su control lo cual incide en mayores costos de producción para el productor y una posible dispersión no prevista a nuevas regiones de cultivo (Hamada y Ghini, 2011; Grajeda *et al.*, 2014).

El gusano de la cápsula, se reconoce como la principal plaga del garbanzo, su presencia año con año en el estado de Sinaloa hace necesario un mayor conocimiento de su dispersión, desarrollo y evaluación de ante el cambio climático en las principales zonas productoras del Estado, con la finalidad de contar con elementos de toma de decisiones en el manejo del cultivo.

HIPÓTESIS

El modelo de predicción que se genere podrá proporcionar pronósticos de la presencia de esta plaga.

OBJETIVO GENERAL

Generar un modelo de predicción para la presencia de gusano de la cápsula del garbanzo en Sinaloa que contribuya a elevar su productividad mediante una mejor toma de decisiones a partir de su uso.

Objetivos específicos

1. Identificar morfológicamente y mediante técnicas moleculares, las poblacionales de las especies *Heliothis viresens* y *Helicoverpa zea*, asociadas al daño en cápsulas de cultivo de garbanzo de Sinaloa.
2. Evaluar el daño del gusano de la cápsula en las principales zonas productoras del estado de Sinaloa.
3. Generar un modelo de predicción regional del complejo *Heliothis viresens* y *Helicoverpa zea* en el cultivo del garbanzo como una herramienta para la toma de decisiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizará una colecta de larvas que se encuentren presentes en cápsulas de garbanzo de cultivos establecidos dentro de los municipios de Ahome, Angostura y Culiacán del estado de Sinaloa, parte del material colectado se pondrá en sustrato a fin de que continúe su desarrollo para la obtención de pupas y adultos. Se efectuará la identificación morfológica de los especímenes mediante claves taxonómicas (Angulo y Weigert, 1975).

Se realizará la caracterización molecular de los especímenes a partir de la extracción de ADN de larvas, pupas y adultos, mediante la amplificación de la región mtDNA CO-I, para

la identificación de insectos por PCR punto final (Pecina-Quintero *et al.* 2015; SENASICA, 2019).

Se recabaran valores bioclimáticos de cada sitio de muestreo a fin de identificar la respuesta al incremento de la intensidad y ocurrencia del complejo de poblaciones del gusano de la cápsula del garbanzo, además se considerarán las variaciones históricas climáticas (Mora-Aguilera, Domínguez-Monge y Flores-Sánchez, 2014).

Para la determinación de daño del gusano de la cápsula en campo, se realizaran muestreos secuenciales en cultivos de garbanzo del ciclo otoño-invierno 2018-2019, 2019-2020 y 2020-2021 establecidos en municipios de Ahome, Angostura y Culiacán del Estado de Sinaloa (Allen, González y Gokhale, 1972; Iwao, 1975; López-Collado, 2015).

Se emplearan datos de presencia puntual y datos bioclimáticos para construir un modelo de predicción regional del complejo de poblaciones del gusano de la cápsula del garbanzo, el modelo será evaluado para su validez (Llorente y Montesinos, 2004; Olvera-Vargas *et al.* 2012; López-Collado y López-Collado 2015).

LITERATURA CITADA

Allen J., González D., y Gokhale D. V. 1972. Sequential Sampling Plans for the Bollworm, *Heliothis zea*, Environmental Entomology, Vol. 1 (6), December 1972, Pp. 771–780, <https://doi.org/10.1093/ee/1.6.771>.

Angulo, A. y Weigert, G. Th. 1975. Estados Inmaduros de Lepidópteros de Noctuidos de Importancia Económica en Chile y Claves para su Determinación (Lepidoptera: Noctuidae). Sociedad de Biología de Concepción. Publicación Especial No. 2. Universidad de Concepción. 153 Pp.

Cortez, M. E. 2018. Manejo de Insectos Plaga en Garbanzo. In: Seminario “Producción Sustentable de Garbanzo en Sinaloa”. Memoria Técnica No. 6. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 56 Pp.

Grageda G., J., Ruiz C. Jiménez L. A y Fu C. A.A. 2014. Influencia del cambio climático en el desarrollo de plagas y enfermedades de cultivos en Sonora. Climate change influence on the development of pests and diseases of crops in Sonora. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 10 12 de noviembre - 31 de diciembre, 2014. Pp. 1913-1921.

Hamada, E. y Ghini, R. 2011. Impactos del cambio climático en plagas y enfermedades de las plantas en Brasil / Impacts of climate change on plant diseases and pests in Brazil. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 2 1 de septiembre - 31 de octubre, 2011. Pp. 195-205.

INIFAP. 2017. Agenda Técnica Agrícola de Sinaloa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 214 Pp.

Iwao, S. 1975. A new method of sequential sampling to classify populations relative to a critical density. Res. Pop. Ecol. 16: 218-288.

Larios G., D. R. 2017. Mercado del garbanzo mexicano de exportación: situación actual (agosto 2017). V Simposio Nacional de Garbanzo. INIFAP. Centro de Investigación Regional del Noroeste. Campo Experimental Costa de Hermosillo. Memoria Científica No. 11, noviembre de 2017. Pp. 11-17.

Llorente I. y Montesinos E. 2004. Los modelos de predicción epidemiológica como herramienta en el control integrado de enfermedades. In: 15º symposium international sobre evaluación del riesgo de plagas y enfermedades. El muestreo como herramienta en la protección integrada. Ed. 164.

López-Collado, J. 2015. Principios del Muestreo Fitosanitario. Reporte Técnico. Colegio de Postgraduados. Campus Veracruz. 22 Pp. DOI: 10.13140/RG.2.1.2855.9521.

Lopez-Collado, J. y Lopez-Collado C. J. 2015. Multi-criteria geographic distribution approach: A case study of *Rhyssomatus nigerrimus* Fharaeus (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Entomology and Zoology Studies 2015; 3(4): 91-97. E-ISSN: 2320-7078.

Mora-Aguilera, G., Domínguez-Monge, S. y Flores-Sánchez, J. L. 2014. Consideraciones epidemiológicas del cambio climático en la fitosanidad de cultivos tropicales. Epidemiological considerations of climate change on tropical crops health. Revista Mexicana de Fitopatología. Volumen 32, Número 2, 2014.

Olvera-Vargas L. A., Núñez G., Galindo M. y Aldama A. 2012. Modelos de distribución potencial para el pronóstico de plagas agrícolas. XLVII Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología. Pp 446-452. <https://docplayer.es/87597712-Modelos-de-distribucion-potencial-para-el-pronostico-de-plagas-agricolas.html> (Consulta, febrero 2019).

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2013. Resolución aprobada por la Asamblea General 68/231. Año Internacional de las Legumbres, 2016 http://www.un.org/en/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/68/231&referer=http://www.un.org/en/events/observances/years.shtml&Lang=S (Consulta, febrero 2019).

Pecina-Quintero, V., Anaya-López. J.L., Cortez-Mondaca, E., Núñez-Colín C. A., Herrera-Corredor, C., Montes-García N., Jiménez-Becerril M. F. y Gámez-Vázquez A. J. 2015. Caracterización Genética de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México Usando Marcadores AFLP. Southwestern Entomologist. September 2015 Vol. 40. No. 3.

SENASICA, 2019. Protocolos de diagnóstico, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/327462/AMPLIFICACION_DE_LA_REGION_mtDNA_COI.PDF (Consulta, febrero 2019).

SIAP. 2017. Atlas Agroalimentario 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Primera Edición 2017. 236 Pp. <http://online.pubhtml5.com/clsi/ibhs/> (Consulta, febrero, 2019).

SIAP. 2019. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.
<http://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Consulta, febrero, 2019).

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE GARRAPATAS *Rhipicephalus microplus* PRESENTE EN BOVINOS DE SINALOA.

Claudia Leonor Barraza-Tizoc¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Jaime Eleazar Borbolla Ibarra¹, María Teresa Quintero Martínez².

Colegio de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

barrazatizoc@gmail.com

RESUMEN

El género *Boophilus* presenta 5 especies a nivel mundial. Las garrapatas son los segundos vectores más importantes en el mundo y las principales en la medicina veterinaria, provocan pérdidas de \$573.61 millones de dólares a los ganaderos, *Rhipicephalus microplus* se distribuye en México, Sinaloa es un entidad endémica con una 50 % de prevalencia para esta garrapata. Se muestrearon 300 bovinos mediante técnica de muestreo no probabilístico pertenecientes a diferentes regiones geográficas de la sierra, valle y costa, como criterio de Inclusión se colectaron garrapatas alimentadas de bovinos. De un total de 1500 garrapatas se observaron por microscopio estereoscópico con base en claves dicotómicas el 100% de las garrapatas correspondieron con las características morfológicas propias de *Rhipicephalus microplus*. Se obtuvo el ADN de un total de 30 garrapatas, para la realización del PCR de 14 muestras de ADN, 5 de la sierra, 5 del valle y 4 de la costa, utilizando el gen 16S ARNr mitocondrial donde amplificó un fragmento de alrededor de 460 pb del *R. microplus*. El objetivo de este trabajo fue Identificar morfológica y genéticamente garrapatas *Rhipicephalus microplus* colectadas en bovinos de Culiacán, Sinaloa.

ABSTRACT

The genus *Boophilus* presents 5 species worldwide. Ticks are the second most important vectors in the world and the main ones in veterinary medicine, cause losses of \$ 573.61 million dollars to farmers, *Rhipicephalus microplus* is distributed in Mexico, Sinaloa is an endemic entity with a 50% prevalence for this tick. 300 bovines were sampled using a non-probabilistic sampling technique belonging to different geographical regions of the sierra, valley and coast, as an inclusion criterion were collected ticks fed on bovines. Of a total of 1500 ticks were observed by stereoscopic microscopy based on dichotomous keys 100% of the ticks corresponded with the morphological characteristics of *Rhipicephalus microplus*. The DNA of a total of 30 ticks was obtained for the PCR of 14 DNA samples, 5 from the sierra, 5 from the valley and 4 from the coast, using the mitochondrial rRNA gene 16S where I amplified a fragment of around 460 pb of *R. microplus*. The objective of this

work was to identify morphologically and genetically *Rhipicephalus microplus* ticks collected in bovines of Culiacán, Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

Las garrapatas pertenecen al suborden Ixodida el cual comprende alrededor de 907 especies las cuales están divididas en tres familias; Ixodidae con 720 especies, Argasidae 186 especies y Nuttalliellidae con una sola especie (Klompen, *et al.*; 1996). En México son de importancia *Boophilus microplus* y *Amblyoma cajennense*. El género *Boophilus* presenta 5 especies a nivel mundial (CENAPA, 2004; USDA, 2017). Las garrapatas son los segundos vectores más importantes en el mundo y las principales en la medicina veterinaria, provocan pérdidas de \$573.61 millones de dólares a los ganaderos, *Rhipicephalus microplus* se distribuye en México, Sinaloa es un entidad endémica con una 50 % de prevalencia para esta garrapata, en la totalidad del Estado. El estatus zoonosario en México de la garrapata *R. microplus*, se reconoce a los Estados de Sonora, Tlaxcala, Aguascalientes, Baja California y Chihuahua (con excepción de los municipios de Morelos y Guadalupe y Calvo) y el Norte de Baja California Sur como libres del ectoparásito. En fase de erradicación se encuentran municipios de Los Cabos y la parte sur de La Paz en BCS; en el norte de Sinaloa; Ahome, Choix y El Fuerte en su margen derecha del río El Fuerte; En Coahuila los municipios de la zona desértica: Cuatrociénegas, Ocampo y Sierra Mojada (USDA, 2017). Aproximadamente mil millones de reses, la mayoría de las cuales se encuentran en el trópico, están en riesgo de infestación de diversas especies de garrapatas o enfermedades transmitidas por garrapatas (Rodríguez-Vivas, 2014). En México se considera al 75% de hato nacional en riesgo de infectarse con *B. bovis* y *B. bigemina* (Rodríguez *et al.*, 2017). Sinaloa se ubica en la zona con una presencia >50% (Rodríguez *et al.*, 2009). Low *et al.* (2015) identificaron morfológicamente y por genes 16S RNAr y COI mitocondriales las garrapatas recolectadas de ganado bovino en Malasia. En Filipinas se identificó garrapatas en fase de larvas *R. microplus* (Ybañes *et al.*, 2013). Kemal *et al.*, (2016) identificaron en Etiopia por microscopio estereoscópico y claves dicotómicas de 540 garrapatas de las cuales fueron *Rhipicephalus* (*Boophilus*). Gaxiola *et al.*, (2009) realizaron comparaciones de cepa *R. (B) microplus* nativa del estado de Sinaloa lo que demuestra su presencia. En Camerún identificaron morfológicamente garrapatas *R. microplus* utilizando el gen mitocondriales 16S RNAr (Silatsa *et al.*, 2019). Así mismo Alcalá-Canto *et al.* (2018) reportó 5571 registros georeferenciados para *Rhipicephalus* spp en México desde los años de 1970 a 2017 donde se ha reportado la distribución de la garrapata *R. microplus*, demostrando la colonización en México, incluyendo áreas caracterizadas por diferentes tipos de clima. Las poblaciones de garrapatas y hospederos mamíferos están influenciadas por el uso, cobertura, tipo de suelo, latitud y temperatura ambiental (Githeko *et al.*, 2000). El conocimiento de los rangos de garrapatas y sus posibles cambios de distribución son necesarios para la proyección de amenazas futuras y esta información es importante para la formulación de una política epidemiológica adecuada con respecto a las garrapatas (Campbell-Ledrum *et al.*, 2015). Labruna en el 2009, propone la definición de las especies de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* para África, América y la especie de *R.*

australianus mediante técnicas moleculares y recomienda al menos estas dos especies deben ser redefinidas desde el punto de vista genético, morfología de los especímenes, hospederos y fauna local en los que se incluye estudios de las garrapatas de acuerdo a su localización geográfica estudios del ARNr mitocondrial se utilizan para la base genética fundamentales en biología de estos linajes de garrapatas. El objetivo de este trabajo fue Identificar morfológica y genéticamente garrapatas *Rhipicephalus microplus* colectadas en bovinos de Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las garrapatas son los segundos vectores más importantes en el mundo y las principales en la medicina veterinaria, provocan pérdidas de \$573.61 millones de dólares a los ganaderos, *Rhipicephalus microplus* se distribuye México, Sinaloa es un entidad endémica con una 50 % de prevalencia para esta garrapata, en la totalidad del Estado.

HIPÓTESIS

La garrapata presente en el ganado bovino en Sinaloa es *Rhipicephalus microplus*.

OBJETIVO GENERAL

Identificar morfológica y genéticamente garrapatas *Rhipicephalus microplus* colectadas en bovinos de Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Identificar morfológicamente las garrapatas colectadas en bovino.

Identificar genéticamente las garrapatas colectadas en bovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bovinos se muestrearon mediante técnica de muestreo no probabilístico descrita por (Thursfield, 2007). La colección de garrapatas se realizó en los meses considerados de mayor prevalencia de garrapatas marzo-septiembre, considerando 300 bovinos, pertenecientes a distintas regiones geográficas de la sierra San José del llano, Badiraguato: localizado en 25°47'23.39" N 107° 20'20.16" Elevación 630 m/ nivel del mar, la región del valle; Jesús María, Culiacán: localizado en 25°05'34.24" N 107° 27'27.54" Elevación 201 m/ nivel del mar, y la región de la costa El cuervo, El dorado, Culiacán: localizado en 24°20'18.24" N 107°26'56.49" Elevación 5 m/nivel del mar, en el estado de Sinaloa.

Criterios de Inclusión: se tomaron garrapatas alimentadas de bovinos

Las garrapatas se retiraron de los bovinos con el índice y el pulgar, lo más cerca posible del capítulo, volteándola hacia arriba y tirando suavemente de ella en contra del pelo hasta desprenderla, evitando que el hipostoma quede adherido a la piel del hospedero, ya que es un órgano de fijación y representa un carácter taxonómico importante (Gallardo y

Morales, 1999). Estas fueron guardadas y conservadas en congelación a -20°C , en tubos hasta su uso (Ybanez *et al.*, 2012). La identificación de las garrapatas se le realizó a las 1500 muestras, de ellas se obtuvieron al azar 5 por población de acuerdo a la región geográfica para la extracción de ADN (Paternina *et al.*, 2016) se realizó el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en Boulevard San Ángel S/N, Fraccionamiento San Benito, Predio Las Coloradas, Culiacán, Sinaloa, México. La identificación morfológica de garrapatas se realizó con base en las claves morfológicas y la clave pictórica del manual de identificación taxonómica de garrapatas (CENAPA, 2004), observándose en microscopio estereoscópico (MOTIC).

Extracción de ADN: 14 garrapata adulta de las tres poblaciones se colocaron en un mortero estéril, se congelaron con nitrógeno líquido y se maceró, se agregó solución de lisis (NaCl 0.1 M, Tris-HCl 0.21 M, pH 8 EDTA 0.05 M, SDS 0.5%), se colocó en un tubo eppendorff, se incubó con proteinasa K a 37°C 1 h. Después se centrifugó 2 min a 12000 RPM. El sobrenadante se recolectó y se agregó fenol (1:1), se centrifugó por 2 min a 12000 RPM, y se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1), se centrifugó por 2 min a 12000 RPM, se obtuvo el sobrenadante, se añadió etanol absoluto, se congeló por 20 min a -80°C . Se centrifugó por 20 min a 12000 RPM y se decantó. A la pastilla obtenida se le agregó agua inyectable estéril (Green y Sambrook, 2012). La pureza de ADN se verificó a partir de 5 μL de la muestra, se homogenizó con 2 μL de azul de bromo fenol, se colocó en gel de agarosa al 1% teñido con Gelred (Biotium inc. Hayward, CA 94545 USA) y sometido a una diferencia de potencial por medio de una cámara de electroforesis a 80 volts, 250 mA durante 30 min observado con una lámpara de luz ultravioleta (Huang *et al.*, 2010).

PCR: se realizó la mezcla de reacción a 25 μL (Buffer 10X, MgCl_2 , dNTPs, H_2O inyectable estéril, Taq Polimerasa, oligonucleótidos y ADN), se llevó a cabo en un termociclador (T100™ BioRAD), para la amplificación del fragmento de 460 pb del gen 16S ARNr mitocondrial. Las secuencias de oligonucleótidos usadas fueron: 16S+1: 5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC AAG T-3' y 16S-1: 5'-GCT CAA TGA TTT TTT AAA TTG CTG TG-3' (Moraes-Filho *et al.*, 2011), las condiciones incluyeron un primer paso de desnaturalización a 94°C por 4 min, seguido por 35 ciclos a 92°C por 30 s, 50°C durante 30 s para alineamiento y 72°C por 45 s para extensión y un paso final de extensión a 72°C por 8 min (Mangold, 1998)

Secuenciación: a las muestras positivas se realizará la secuencias en mediante el sistema 3730XL Applied Biosystems®, en la empresa MacroGen inc., Seoul, Korea.

Las secuencias de garrapatas y su comparación homóloga se realizará con secuencias disponibles en la base de datos del Centro Nacional para la Información de Biotecnología (NCBI) de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (NIH), mediante el programa BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De un total de 1500 garrapatas se observaron por microscopio estereoscópico con base en claves dicotómicas, el 100% de las garrapatas correspondieron con las características morfológicas propias de *Rhipicephalus microplus*. Esta investigación concuerda con Gaxiola *et al.* (2009) donde observaron una cepa nativa de *Rhipicephalus microplus* en ganado bovino, en Sinaloa; así mismo, Alcalá-Canto *et al.* (2018) reportaron la presencia de *R. microplus* en 14 municipios de Sinaloa con base a los datos descritos por la SAGARPA, cuales fueron identificadas por claves dicotómicas, difiere en los sitios de muestreo de esta investigación ya que se recolectaron de la sierra y costa, coincidiendo en el región del valle del Estado. Boka *et al.* (2017) en Costa Marfil, realizaron un muestreo nacional donde identificaron las garrapatas presentes en el ganado bovino por regiones, recolectaron 24,031 garrapatas las cuales se utilizaron claves dicotómicas y el 62.27 % de las garrapatas resultaron como *Rhipicephalus* (subgenus *Boophilus*). Kemal *et al.* (2016) en Etiopia, identificaron por microscopía y claves dicotómicas a 540 garrapatas de ganado bovino como *R. (Boophilus)*.

Se identificó con PCR las garrapatas *R. microplus* por medio del gen 16S ARNr mitocondrial, 14 muestras de ADN, 5 de la sierra, 5 del valle y 4 de la costa, se amplificó un fragmento del alrededor de 460 pb de cada una, estos resultados concuerdan Silatsa *et al.* (2019) donde realizaron identificación genética de garrapatas de Camerún utilizando 16S ARNr y COI mitocondriales a 409 pb y 600 pb respectivamente, caracterizando así *Rhipicephalus* spp., esto es por la utilización del 16S ARNr mitocondrial en la identidad y homología de las garrapatas *R. microplus*.

CONCLUSIÓN

Se concluye que las garrapatas presentes en los bovinos de Sinaloa son *Rhipicephalus microplus* lo cual es confirmo por morfología y por la amplificación del gen. La utilización de herramientas moleculares, es importante como apoyo para investigaciones futuras y para establecer campañas de prevención y control de las garrapatas del ganado bovino y de las enfermedades tiene la capacidad de transmitir.

LITERATURA CITADA

Alcalá-Canto Y., Figueroa-Castillo J. A., Ibarra-Velarde F., Vera-Montenegro Y., Cervantes-Valencia M. E., Salem A. Z. M. and Cuellar-Ordaz J. A. 2018. Development of the first georeferenced map of *Rhipicephalus (Boophilus)* spp. in Mexico from 1970 to date and prediction of its spatial distribution. *Geospat Health*. 13, 1: 624. 1970-7096 (Electronic) 1827-1987 (Linking). 10.4081/gh.2018.624.

Almazan C., Lagunes R., Villar M., Canales M., Rosario-Cruz, R., Jongejan F., de la Fuente J. (2010). Identification and characterization of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* candidate protective antigens for the control of cattle tick infestations. [Research

Support, Non-U.S. Gov't]. *Parasitol Res*, 106(2), 471-479. doi: 10.1007/s00436-009-1689-1

Boka O]. M., Achi L., Adakal H., Azokou A., Yao P., Yapi Y. G., Kone M., Dagnogo K. and Kaboret Y. Y. 2017. Review of cattle ticks (Acari, Ixodida) in Ivory Coast and geographic distribution of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, an emerging tick in West Africa. *Exp Appl Acarol*. 71, 4: 355-369. 1572-9702 (Electronic)0168-8162(Linking).10.1007/s10493-017-0129-7.

Burger T. D., Shao R., y Barker S. C. (2014). Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, contains a cryptic species. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Mol Phylogenet Evol*, 76, 241-253. doi: 10.1016/j.ympev.2014.03.017

Centro Nacional de Servicio Constatación de Salud Animal (CENAPA) 2004. Manual de identificación de garrapatas.

Campbell-Lendrum D., Manga L., Bagayoko M., Sommerfeld J. 2015. Climate change and vector-borne diseases: what are the implications for public health research and policy? *Philos T Roy Soc B* 370:20130552

Csordas B. G., Garcia M. V., Cunha R. C., Giachetto P. F., Blecha I. M. and Andreotti R. 2016. New insights from molecular characterization of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 25, 3: 317-26. 1984-2961 (Electronic) 0103-846X (Linking). 10.1590/S1984-29612016053.

Gallardo JS, Morales J. 1999. *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae): preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. *En: Bioagro*. 11(3):77-87

García-García, J. C., González I. L., González D. M., Valdés, M., Méndez L., Lamberti J., De La Fuente J. (1999). Sequence variations in the *Boophilus microplus* Bm86 locus and implications for immunoprotection in cattle vaccinated with this antigen. *Experimental and Applied Acarology*, 23(11), 883-895. doi: 10.1023/A:1006270615158

Gaxiola-Camacho S., Garcia-Vazquez Z., Cruz-Vazquez C., Portillo-Loera J., Vazquez-Pelaez C., Quintero-Martinez M. T., Rosario-Cruz R. 2009. Comparison of efficiency and reproductive aptitude indexes between a reference and field strains of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, in Sinaloa, Mexico. *Rev Bras Parasitol Vet*. 18, 4: 9-13. 0103-846X (Print)

Githeko A. K., Lindsay S. W., Confalonieri U. E. Patz J. A. 2000. Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bull World Health Organ*, 78, 1136-47

Green R. M., Sambrook J. 2012 *Molecular cloning. Laboratory manual*. 4ta. Edition. Cold spring Harbor. New York.2028p. ISBN 9781936113422.

Huang Q., Baum L., y Fu W L. (2010). Simple and practical staining of DNA with GelRed in agarose gel electrophoresis. *Clin Lab*, 56(3-4), 149-152.

- Kemal J., Tamerat N. y Tuluka T. 2016. Infestation and Identification of Ixodid Tick in Cattle: The Case of Arbegona District, Southern Ethiopia. *J Vet Med.* 2016, 9618291. 2356-7708 (Print) 2314-6966 (Linking). 10.1155/2016/9618291.
- Klompen J. S., Black W C t., Keirans J. E., & Oliver J H., Jr. (1996). Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol*, 41, 141-161. doi: 10.1146/annurev.en.41.010196.001041
- Labruna M. B., Naranjo, V., Mangold, A. J., Thompson, C., Estrada-Pena A., Guglielmone, A. A., de la Fuente, J. (2009). Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *BMC Evol Biol*, 9, 46. doi: 10.1186/1471-2148-9-46
- Low V. L., Tay S. T., Kho K. L., Koh F. X., Tan T. K., Lim Y. A. L., Sofian-Azirun, M. (2015). Molecular characterisation of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: New insights into the cryptic diversity and distinct genetic assemblages throughout the world. *Parasites and Vectors*, 8(1). doi: 10.1186/s13071-015-0956-5
- Mangold A J., Bargues M D. y Mas-Coma S., (1998). Mitochondrial 16S rRNA sequences and phylogenetic relationships of *Rhipicephalus* and other tick genera
- Moraes-Filho J., Marcili A., Nieri-Bastos F A., Richtzenhain L J., and Labruna M.B. 2011. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Trop.* 117, 51–55. doi: 10.1016/j.actatropica.2010.09.006.
- Paternina L. E., Verbel-Vergara D. and Bejarano E. E. 2016. Comparison of 16S and COX1 genes mitochondrial regions and their usefulness for genetic analysis of ticks (Acari: Ixodidae). *Biomedica.* 36, 2: 295-302. 0120-4157 (Print) 0120-4157 (Linking). 10.7705/biomedica.v36i2.3116.
- Rodríguez S. D., Garcia Ortiz M. A., Jimenez Ocampo R. and Vega Y Murguía C. A. 2009. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infect Genet Evol.* 9, 6: 1092-101. 1567-7257 (Electronic) 1567-1348 (Linking). 10.1016/j.meegid.2009.09.007.
- Rodríguez-Vivas R. I. Grisi L, Pérez A. A., de León, H., Villelad S., Torres-Acosta J. F. J., Sánchez F. H., Romero S. D., Rosario C. R., Saldiernah F., García D., Carrasco H. 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias.* 8: 61-74.
- Rodríguez-Vivas R. I., Jonsson N. N. and Bhushan C. 2017. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol Res.* 1432-1955 (Electronic) 0932-0113 (Linking). 10.1007/s00436-017-5677-6.
- Rodríguez-Vivas R. I., Perez-Cogollo L. C., Rosado-Aguilar J. A., Ojeda-Chi M. M., Trinidad-Martinez I., Miller R. J., Li A. Y., De Leon A. P., Guerrero F. and Klafke G. 2014. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistant to acaricides and ivermectin in cattle farms of Mexico. *Rev Bras Parasitol Vet.* 23, 2: 113-22. 1984-2961 (Electronic) 0103-846X (Linking).

SAGARPA-SENASICA. Situación zoonosaria la campaña para el control de la garrapata *Boophilus spp* en México. 2014.

Sambrook J., Fritsch E.F Maniatis, T. 1989. In vitro Amplification of DNA by the Polymerase Chain Reaction. In: Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (Eds.) Molecular Cloning: a Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, chapter 14. ISBN

Silatsa B. A., Kuate J. R., Njiokou F., Simo G., Feussom J. K., Tunrayo A., Amzati G. S., Bett B., Bishop R., Githaka N., Opiyo S. O., Djikeng A. and Pelle R. 2019. A countrywide molecular survey leads to a seminal identification of the invasive cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Cameroon, a decade after it was reported in Cote d'Ivoire. *Ticks Tick Borne Dis.* 1877-9603 (Electronic)1877-959X (Linking). 10.1016/j.ttbdis.2019.02.002.

USDA.https://www.aphis.usda.gov/import_export/downloads/presentations/Boophilus-tick.pdf accesado en enero de 2018.

Ybanez A. P., Sivakumar T., Ybanez R. H., Ratilla J. C., Perez Z. O., Gabotero S. R., Hakimi H., Kawazu S., Matsumoto K., Yokoyama N. and Inokuma H. 2013. First molecular characterization of *Anaplasma marginale* in cattle and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks in Cebu, Philippines. *J Vet Med Sci.* 75, 1: 27-36. 1347-7439 (Electronic)0916-7250 (Linking).

Ybanez A. P., Perez,Z. O., Gabotero S. R., Yandug R. T., Kotaro M., Inokuma H. (2012). First molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in ticks from dogs in Cebu, Philippines. *Ticks Tick Borne Dis*, 3(5-6), 288-293. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.032

PATOGENICIDAD DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* RAZAS 0 Y 5 EN GENOTIPOS DE GARBANZO BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.

Jorge Alberto Edeza Urias¹, Carlos Alfonso López Orona², Sixto Velarde Félix³, Víctor Valenzuela Herrera⁴, Guadalupe Alfonso López Urquidez⁵, Jesús Enrique Retes Manjarrez⁶.

¹ Maestría en Ciencias Agropecuarias Facultad de Agronomía (FA) de Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). edeza117@gmail.com. ² Doctor e Investigador (FA-UAS). ³ Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias del Campo Experimental del Valle de Culiacán (INIFAP-CEVACU). ⁴ Investigador del INIFAP-CEVACU. ⁵ Doctor e Investigador FA-UAS. ⁶ Director e Investigador de la Universidad Tecnológica de Culiacán (UTC).

RESUMEN

La fusariosis vascular del garbanzo provocada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC) es difícil de controlar. El control químico de ésta disminuye la biodiversidad del suelo y contamina el ambiente, por lo cual se deben desarrollar medidas sustentables para limitar la enfermedad. En la búsqueda de materiales resistentes y de alternativas de control biológico a la fusariosis vascular, se realizaron pruebas de patogenicidad inoculando plantas de garbanzo con 1×10^6 UFC/ml con cada aislamiento (raza 0 y 5), evaluando el Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) en genotipos de garbanzo (n=34) mediante en ambiente controlado (25°C, 70-80 HR y 1.6×10^4 lux). Se evaluó acorde a la presencia de los síntomas de la enfermedad y se utilizó un diseño completamente al azar. Además de evaluar tratamientos biológicos usando bacterias promotoras del desarrollo vegetal (BPCV) mediante en ensayos *in vitro* por la técnica de cultivo dual usando cinco cepas bacterianas: P61 (*Pseudomonas tolaasii*), A46 (*P. tolaasii*, R44 *Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus* sp.) y CP-351 (*Serratia plymuthica*) confrontando dos aislamientos de FOC (raza 0 y 5) evaluando Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) usando un DCA. Siendo los genotipos 20, 6 y 5 con mayor susceptibilidad a razas 0 y 29, 4 y 1 a la raza 5.

Palabras clave: Patogenicidad, Bacterias, *Fusarium* spp., Fusariosis, Resistencia.

ABSTRACT

Fusarium wilt of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC) is difficult to control. Chemical control decreases the soil's biodiversity and pollutes the environment, so that sustainable measures must be developed to limit the disease. In the search of resistant materials and biological control alternatives to fusarium wilt, pathogenicity tests are performed by inoculating chickpea plants with 1×10^6 CFU / ml with each isolation (race 0 and 5). Was evaluated the Severity of Disease Index (DSI) in chickpea genotypes (n = 34) by controlled environment (25°C 70-80 HR 1.6×10^4 lux). The presence of the symptoms of the disease was evaluated to a completely random design. In addition to evaluating biological treatments using bacteria that promote plant development (BPPD) by *in vitro* assays by the dual culture technique using five bacterial strains: P61 (*Pseudomonas tolaasii*), A46 (*P. tolaasii*, R44 *Bacillus pumilus*), BSP1.1 (*Paenibacillus*

sp.) y CP-351 (*Serratia plymuthica*) comparing two isolations of FOC (race 0 and 5) evaluating Percentage of Inhibition of Radial Growth (PIRG) and antagonism using a complete random design. The genotypes 20, 6 and 5 with greater susceptibility to races 0 and 29, 4 and 1 to race 5.

Key words: Pathogenicity, Bacteria, *Fusarium* spp., Fusariosis, Resistance.

INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es uno de los cultivos más importantes en el aspecto cultural, alimenticio y económico, así, el garbanzo es considerado como la tercer leguminosa alimenticia más importante del mundo, después del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y los guisantes secos (*Pisum sativum* L.) (Vishwa Dhar y Gurha, 1998). A nivel mundial se produjeron 12 millones 92 mil 950 t (FAOSTAT, 2017). Donde México en 2015 obtuvo una producción aproximada de 137 mil 809 t de garbanzo en una superficie de 82 mil 337 has (SIAP, 2015). Distinguiéndose en el noroeste de México, que comprenden los estados de Sinaloa, Sonora y Baja California Sur (BCS), por ser el área productora de garbanzo blanco para exportación, y es la región donde se produce el grano de mejor calidad en calibre y peso en México (Ortega-Murrieta *et al.*, 2013); donde destaca Sinaloa como principal productor del país con 78 mil 425 t con superficie de siembra de 48 mil 270 has y rendimiento de 1.62 t ha⁻¹, seguido por Sonora con 26 mil 751 t, superficie de 11 mil 245 has y rendimiento de 2.38 t ha⁻¹ y por continuado con BCS con tres mil 826 t de producción en una superficie de tres mil 977 has y rendimiento 0.96 t ha⁻¹ (SIAP, 2015). Sin embargo, la producción de este cultivo es limitada por enfermedades de origen fungoso, como *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), hongo fitopatógeno habitante natural del suelo que causa la enfermedad descrita como “fusariosis vascular” o marchitez por *Fusarium* spp. que causa importantes pérdidas de rendimiento en garbanzo en todo el mundo. Además es el fitopatógeno más importante dentro del complejo de hongos que provocan la enfermedad conocida como “rabia del garbanzo” en este cultivo (Velarde-Félix *et al.*, 2013). La fusariosis vascular es reportada en la mayoría de los países donde se cultiva garbanzo (Haware y Nene, 1982). Las pérdidas causadas por el hongo van de 10 a 40 % de la cosecha anual, y puede devastar por completo al cultivo en condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad, siendo éstas de 25 a 27°C (Landa *et al.* 2006; Guerrero *et al.*, 2015). A la fecha se han descrito ocho razas fisiológicas Haware y Nene (1982); 0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5, y 6. Donde las razas 0 y 1B/C inducen síntomas de amarillamiento, mientras que las razas 1A, 2, 3, 4, 5 y 6, síntomas de marchitez (Jiménez-Díaz *et al.*, 1993; Jiménez-Gasco *et al.*, 2001; Kelly *et al.*, 1994). De las cuales en la actualidad se ha detectado mediante pruebas morfológicas, moleculares y biológicas las razas 0 y 5 de FOC en el noroeste de México (Sinaloa, Sonora y Baja California Sur) (Velarde-Félix *et al.*, 2015). Dado que el uso de materiales resistentes dentro de estrategias de manejo integral a la fusariosis vascular se considera eficiente debido a la resistencia de los genotipos a ésta (Jiménez-Gasco y Jiménez-Díaz, 2003; Sharma *et al.*, 2005; Sharma y Muehlbauer, 2007). Debido a la dificultad de controlarlo al patógeno por su persistencia en el suelo a través de clamidiosporas, aunado al uso de productos fungicidas utilizados para su control

que dañan a los cultivos por efectos fitotóxicos y promueven la eliminación organismos benéficos, problemas de seguridad, salud pública y uso de agroquímicos, así como la posible contaminación difusa a los cuerpos de agua subterráneos, causan la búsqueda y establecimiento de alternativas ecológicas de manejo de esta enfermedad. Por ello el objetivo de la investigación es determinar materiales resistentes a la fusariosis ocasionada por aislamientos de *FOC* raza 0 y 5 evaluando su patogenicidad en condiciones controladas, así como valorar la capacidad inhibitoria a *FOC* mediante el uso de cepas bacterianas como alternativa de control biológico.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dado que el factor número uno como limitante de producción de garbanzo, en México y el mundo, es la fusariosis vascular ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* presenta dificultad para controlarlo su persistencia en el suelo por medio de clamidiosporas y aunado a la contaminación que conlleva su control químico. Implica el empleo de otros elementos de control como la identificación de materiales con potencial para mejoramiento genético resistentes a la enfermedad dentro de una estrategia de manejo integral y el uso de controles biológicos amigables con el medio ambiente. Por ello parte de la investigación es dedicada al escrutinio de resistencia de materiales avanzados (líneas puras) provenientes de programas de mejoramiento genético del INIFAP-CEVACU, así como estudiar tratamientos de origen biológico para evaluar el comportamiento de la Fusariosis contribuyendo a la mejora de materiales genéticamente y obtención de alternativas de control biológico.

HIPÓTESIS

En los genotipos de garbanzo generados en Sinaloa y Sonora existen materiales resistentes a *FOC* raza 0 y 5 y las cepas bacterianas son una alternativa para el control de la fusariosis vascular por su actividad inhibitoria frente a *FOC* razas 0 y 5.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la patogenicidad de dos aislados de *FOC* (raza 0 y raza 5) en genotipos de garbanzo, así como analizar el efecto inhibitorio de cepas bacterianas *in vitro* como método de control biológico a la fusariosis vascular.

Objetivos específicos

1. Determinar el Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) de fusariosis provocada por dos aislamientos de *FOC* (razas 0 y 5) al ser inoculados en genotipos de garbanzo generados en Sinaloa y Sonora bajo condiciones controladas.
2. Determinar el porcentaje inhibición de *FOC* razas 0 y 5 frente a las BPCV como agentes de biocontrol de la Fusariosis vascular del garbanzo en pruebas *in vitro* mediante la técnica de cultivo dual.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de los aislamientos fúngicos, material vegetal y cepas bacterianas: Los aislados fúngicos fueron donados por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) siendo las razas fisiológicas 0 y 5 con código de aislado 130CS y 303CS respectivamente y de número de accesión al GenBank KJ000583 y KJ000584 identificados vía molecular y biológica anteriormente por Velarde- Félix *et al.* (2015). El material vegetal (n=37) fue otorgado por el banco de germoplasma de garbanzo del Campo Experimental Valle de Culiacán (CEVACU; Cuadro 1 y 2).

Las BPCV que se usaron en el estudio de confrontaciones *in vitro* fueron aisladas e identificadas de diferentes muestras de suelo de cultivo, a su vez originarias de diferentes localidades del estado de México. Donde tres fueron del Valle de Toluca, estado de México: 1) *Pseudomonas tolaasii* (A46: obtenida de Rizosfera de papa var. Alpha), promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas, promueve micorrización, incrementa germinación (Anith *et al.* 2015; Dell'Amico *et al.* 2008). 2) *Pseudomonas tolaasii* (P61: Rizosfera de Papa), promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas, controla *Rhizoctonia* en pruebas con plantas (Govindasamy y Senthilkumar, 2011; Kumar *et al.* 2011). 3) *Bacillus pumilus* (R44: Rizosfera de papa var. Rosita), promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas. (Govindasamy y Senthilkumar, 2011; Kumar *et al.* 2011). Una originaria del Valle de Allende, Puebla, siendo: 4) *Paenibacillus* sp. (BSP 1.1: Suelo andisol), promueve crecimiento vegetal, solubiliza fosfatos, produce auxinas (Pineda-Mendoza, 2015) y de Sierra Nevada 5) *Serratia plymuthica* (CP-351: Rizosfera de chile poblano), solubiliza fosfatos, inhibe *Fusarium* spp. y *Phytophthora* spp.

Activación de los aislamientos fúngicos y cepas bacterianas: Los aislamientos fúngicos de FOC (razas 0 y 5) fueron activados por separado en cajas Petri (90 x 15 mm) utilizando el método de inclusión de porción (Leslie y Summerell, 2006), con ligeras modificaciones. Donde, pastillas de 1 cm de diámetro cortadas con sacabocados fue colocado en el centro de las cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA, por siglas en inglés) previamente acidificado (200 ml L⁻¹ de ácido láctico a 85%). Las placas se incubaran 25°C durante 7 d en obscuridad en cámara de crecimiento Friocel®. Las bacterias se cultivaron en placas Petri sin división (90 x 15 mm) con medio de cultivo agar nutritivo (23 g L⁻¹) bajo condiciones asépticas en campana de flujo laminar. Por lo cual se tomó una muestra de cada cepa de estudio mediante la siembra por el método de estriado con el uso de asa bacteriológica estéril. Las placas se incubaron a 28 °C por 24 h para su desarrollo en obscuridad en Friocel®.

Producción de inóculos fúngicos y bacterianos: Para la obtención de inóculos de FOC se incrementaron los aislados de raza 0 y 5 respectivamente mediante matraces con 500 ml de medio caldo papa y dextrosa (PDB, por siglas en inglés) compuesto de (250 g de infusión de papa L⁻¹, 20 g de Dextrosa Anhidrida L⁻¹, autoclaveado a 120°C por 15 min) a los cuales en condiciones asépticas y tras enfriarse a temperatura ambiente (TA) se le agregan 8 pastillas de 1 cm de diámetro del aislado previamente desarrollado en 7 días de edad, tomadas del borde del crecimiento activo de una colonia en PDA. Incrementando cada inóculo de los aislados respectivos con condiciones de 25°C durante 10 días en

agitador orbital modelo Sky Line Digital Orbital Shaker DOS-10M-Medium (5KG) a 140 rpm, y ajustadas bajo las mismas condiciones de temperatura y duración descritas para el medio PDA (Navas-Cortés *et al.*, 2007). Se obtuvo la suspensión de conidios determinada de cada aislado y con la ayuda de un hematómetro Neubauer® improved, Marienfeld (Alemania) del registro dado se ajustó a una concentración de 1×10^6 UFC/mL para ambas razas de FOC. Esta concentración de inoculación ha sido utilizada previamente por Tekeoglu *et al.* (2000); Sharma *et al.* (2004) y Guerrero *et al.* (2015) en diferentes estudios con FOC. Para incrementar masivamente cada una de las BPCV se utilizó como medio caldo nutritivo (8 g L^{-1}) previamente autoclaveado (120°C durante 15 min y enfriado a TA), para activar el proceso de obtención de inóculos bacterianos se tomó una colonia viable y desarrollada en las cajas Petri anteriormente activadas por método de estriado con asa dentro de campana de flujo laminar y agregar con él asa al caldo previamente enfriado y colocarlo en agitador orbital a 140 rpm con condiciones de 28°C durante 72 h en oscuridad. Una vez pasados 72 h se cuenta la cantidad de UFC/mL por el método de conteo en placa de colonias viables en cajas Petri con medio agar nutritivo (23 g L^{-1}). Donde se toma 1 mL de cada matraz de inóculo activado para someterlo a diluciones seriadas. La cual consiste en llenar ocho tubos de ensayo con 9 mL de solución salina al 0.85% estéril y llegar a las diluciones transfiriendo a cada tubo de ensayo la cantidad de 1 mL a partir del inóculo al primer tubo (10^1), tras homogeneizar cada dilución mediante vortex por un minuto se repite en cada tubo hasta llegar a (10^6 , 10^7 y 10^8) donde se tomará el volumen requerido para transferir en nuevas cajas Petri con medio de agar nutritivo mediante la adición de 100 μL y agitar la solución agregada en la Petri con el uso de asa de Drigralsky hasta homogeneizar. Las placas Petri sembradas con la dilución se almacenan a 28°C durante 24 h en Friocel® para realizar conteo. Realizada la incubación se cuentan las colonias vivas mediante y registra usando la fórmula $\text{UFC/ml} = \text{N}^\circ \text{ de colonias en placa (entre 30 y 300) * inverso de la dilución / cantidad de alícuota en } \mu\text{L de la muestra}$. Estableciendo de esta manera la concentración de células bacterianas en los inóculos A46, P61, R44, BSP1.1 y CP-351 de: (2.2×10^9 , 1.5×10^9 , 2.7×10^9 , 5.6×10^8 y 2.5×10^9 UFC/ml respectivamente). Este conteo se realiza por la confiabilidad al contar células viables en determinada muestra y se ajustaron a 1×10^8 UFC/ml utilizando la fórmula para concentraciones ($C1 * V1 = C2 * V2$).

Ensayo de patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo: 37 genotipos fueron evaluados, conformados por 28 líneas avanzadas generadas en Culiacán Sinaloa, tres generadas en Hermosillo Sonora, tres cultivares comerciales (Blanco Sinaloa-92; Jumbo-2010 y Progreso-95) y sus respectivos controles positivo y negativo e intermedio (WR-315 (R); P-2245 (S) y JG-62 (R) (S) respectivamente a las razas 0 y 5 de FOC (Cuadro 1 y 2). Todos los genotipos fueron sometidos a inoculación respectivamente con las razas 0 y 5 de FOC dentro de cámaras de crecimiento en instalaciones de laboratorio de la facultad de agronomía. Las condiciones de temperatura de 25°C y 70-80% humedad relativa (medurada con Termohigrómetro digital Taylor ® 1523) con programación de fotoperiodo de luz/oscuridad (12 h: 12 h) con 1.6×10^4 lux (con el uso de reloj automático Tork ® S1102) con base al protocolo de Trapero-Casas y Jiménez-Díaz (1985) y Navas-Cortés *et al.*

(2007). La inoculación fue llevada a cabo cuando las plantas tenían tres hojas verdaderas completamente desarrolladas por el método de drenado líquido en suspensión conidial de 1×10^6 UFC/ml agregando 20 ml de suspensión a cada maceta con ayuda de jeringas estériles. Las macetas contenían sustrato Kekila® y vermiculita (2:1) previamente esterilizado (120°C durante 2 horas) vertido en vasos de corcho de 350 ml, mismo que tenía dos plantas distribuidas en cuatro bloques dando un total de ocho plantas por genotipo para cada inoculación respectiva a la raza de FOC y su testigo bloque sin inóculo. La desinfestación de las semillas de garbanzo de cada uno de los genotipos consistió en lavarlas en una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 3 min y posteriormente enjuagarlas mediante tres lavados en agua destilada estéril. Para la fertilización de las plantas se utilizó solución de Steiner al 10% regando semanalmente. La cual fue ajustada a una conductividad eléctrica de 0,5 ds/m, con los siguientes componentes (mg/L): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (106.2 g); KNO_3 (30.3 g); K_2SO_4 (27 g); $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (49.2 g) y KH_2PO_4 (13.6 g), agregando Fe (0.15 g) dicha solución con el pH ajustado a 6,5 (Alcántar-Gonzales *et al.* 2015). La evaluación del Índice de Severidad de la Enfermedad (DSI) ocurrió semanalmente, se tomaron medidas a partir del día de inoculación hasta completar 63 días después de la inoculación (DDI), las plantas fueron examinadas con base a la sintomatología observada acorde (amarillez, marchitez). Éste último acorde a escala 0-4 propuesta por Marlatt *et al.*, (1996) la cual consiste en lo siguiente: 0) Planta sana / sana; 1) Leves síntomas de marchitamiento, clorosis en las hojas, retraso del crecimiento; 2) Moderados síntomas de clorosis, marchitez, retraso del crecimiento; 3) Severos síntomas de clorosis, marchitez o retraso del crecimiento; 4) Planta muerta, totalmente marchita, amarilla. Evaluando mediante la fórmula de (Galanihe *et al.*, 2004): $\text{DSI} (\%) = \frac{\sum \{(P * Q)\}}{(M * N)} \times 100$. Donde, P = puntaje de escala, Q = Número de plantas infectadas acorde a la escala; M = Total de plantas observadas; N = Máxima infestación en el número de la escala.

Diseño experimental y análisis estadístico: de los ensayos de patogenicidad para las razas 0 y 5 de FOC se realizaron bajo un diseño completamente al azar. Se realizó prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y prueba de Dunn ($p < 0.05$) con el paquete estadístico XLSTAT (Addinsoft, 2019).

Ensayo de antagonismo *in vitro* de cepas bacterianas promotoras del crecimiento vegetal frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* raza 0 y 5: La actividad antagónica se llevó a cabo mediante la técnica de cultivo dual (Ezziyyani *et al.*, 2004a) en placas Petri con medio de cultivo PDA (39 g L^{-1}). Se estudió la capacidad inhibitoria de las cepas bacterianas contra dos razas de FOC (raza 0 y raza 5). En las confrontaciones las cepas bacterianas frente a FOC raza 0 y 5 se colocaron respectivamente en un disco de 1 cm de diámetro del fitopatógeno crecido en PDA en un extremo de la placa (1 cm de distancia), y 72 horas después se sembró la cepa bacteriana en el centro de la placa (1.5 cm de distancia) por asada gruesa formando una barrera vertical (1 cm de grosor). ■ Las placas confrontadas y las testigo se incubaron 7 días a 25°C en Friocel®. La evaluación de la capacidad inhibitoria de las cepas de las BPCV, se determinó pasadas 168 h, mediante el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) en función de los radios mayor

(R1) y menor (R2) de crecimiento de *Fusarium* spp. Según la fórmula: $PICR = (R1 - R2)/R1$ * (Ezziyani *et al.*, 2004b).

Tratamientos y diseño experimental: se utilizó diseño completamente al azar para cada raza de FOC desarrollada durante 7 d a 25°C en medio PDA. Contemplando cuatro repeticiones por tratamiento (Cada repetición contenía una confrontación (unidad experimental)). A los datos se les realizaron pruebas de normalidad y homocedasticidad para así realizar un ANDEVA, y la prueba de comparación de medias de Tukey ($P = 0.05$) XLSTAT

RESULTADO Y DISCUSIÓN

Patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* razas 0 y 5 en genotipos de garbanzo: Se observó diferencia significativa en la patogenicidad FOC raza 0 hacia los genotipos con un valor de p de $< 0,0001$ y 0.1000 para el caso de FOC raza 5 (Cuadro 3: Cuadro 4 respectivamente). En el caso de FOC raza 0 el mayor porcentaje de daño de susceptibilidad se presentó en el genotipo 20 seguido del genotipo 6 y 5, sin embargo, la prueba estadística mostró que no había diferencia significativa (Cuadro 1) y en el caso de FOC raza 5 se presentó en el genotipo 29, 4 y 1 (Cuadro 2).

Cuadros 3 y 4. Prueba de Kruskal-Wallis en genotipos de garbanzo frente a FOC razas 0 y 5 respectivamente.

Prueba de Kruskal-Wallis FOC raza 0		Prueba de Kruskal-Wallis FOC raza 5	
K (Valor observado)	76.691	K (Valor observado)	47.209
K (Valor crítico)	50.998	K (Valor crítico)	50.998
GL	36	GL	36
Valor-p	$< 0,0001$	Valor-p	0.1000

Cuadro 1. Comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Dunn en genotipos de garbanzo inoculados con FOC raza 0.

Genotipo	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
35: JG-62	9	351.000	39.000	A
36: WR-315	9	351.000	39.000	A
30: CuGa08-910	9	668.500	74.278	A B
34: PROGRESO-95	9	787.000	87.444	A B
33: BLANCO SINALOA-92	9	972.000	108.000	A B
13: CuGa09-2092	9	1271.000	141.222	A B
26: CuGa08-591	9	1325.000	147.222	A B
16: CuGa09-2058	9	1369.000	152.111	A B
14: HOGA-67	9	1380.500	153.389	A B
32: JUMBO-2010	9	1422.000	158.000	A B
15: CuGa09-3195	9	1439.000	159.889	A B
17: CuGa09-2004	9	1446.500	160.722	A B
9: CuGa09-2029	9	1454.500	161.611	A B
29: CuGa08-735	9	1455.500	161.722	A B

24: CuGa08-740	9	1476.000	164.000	A	B
28: CuGa08-623	9	1500.000	166.667	A	B
12: CuGa09-3218	9	1511.000	167.889	A	B
2: CuGa09-3162	9	1522.000	169.111	A	B
18: HOGA 2001-2-2	9	1551.500	172.389	A	B
27: CuGa08-2854	9	1561.000	173.444	A	B
10: CuGa09-3220	9	1570.500	174.500	A	B
25: CuGa08-738	9	1574.500	174.944	A	B
23: CuGa08-751	9	1587.000	176.333	A	B
8: CuGa09-3106	9	1689.000	187.667	A	B
1: CuGa09-2054	9	1695.000	188.333	A	B
4: CuGa09-3122	9	1723.000	191.444	A	B
19: CuGa09-2005	9	1775.000	197.222	A	B
11: CuGa09-3214	9	1777.000	197.444	A	B
22: CuGa08-1210	9	1834.500	203.833	A	B
7: HOGA-21	9	1864.000	207.111	A	B
31: CuGa09-3168	9	1868.000	207.556	A	B
3: CuGa09-2048	9	1879.500	208.833	A	B
21: CuGa09-2002	9	1903.000	211.444	A	B
5: CuGa09-2031	9	1965.000	218.333		B
37: P-2245	9	1997.500	221.944		B
6: CuGa08-3157	9	2010.000	223.333		B
20: CuGa09-3124	9	2084.500	231.611		B

37: Control Susceptible a la raza 0 y 5, 36: Control Resistente a la raza 0 y 5, 35: Control resistente y susceptible a las razas 0 y 5 respectivamente.

Cuadro 2. Comparaciones múltiples por pares mediante el procedimiento de Dunn en genotipos de garbanzo inoculados con FOC raza 5.

Genotipo	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
36: WR-315	9	274.500	30.500	A
27: CuGa08-2854	9	1099.000	122.111	A B
12: CuGa09-3218	9	1128.500	125.389	A B
32: JUMBO-2010	9	1180.000	131.111	A B
21: CuGa09-2002	9	1249.500	138.833	A B
15: CuGa09-3195	9	1270.500	141.167	A B
18: HOGA 2001-2-2	9	1286.000	142.889	A B
30: CuGa08-910	9	1294.000	143.778	A B
16: CuGa09-2058	9	1308.000	145.333	A B
7: HOGA-21	9	1327.000	147.444	A B
31: CuGa09-3168	9	1327.500	147.500	A B

34: PROGRESO-95	9	1372.500	152.500	A	B
19: CuGa09-2005	9	1378.500	153.167	A	B
22: CuGa08-1210	9	1398.000	155.333	A	B
10: CuGa09-3220	9	1416.000	157.333	A	B
9: CuGa09-2029	9	1419.000	157.667	A	B
23: CuGa08-751	9	1428.000	158.667	A	B
20: CuGa09-3124	9	1476.500	164.056	A	B
13: CuGa09-2092	9	1490.500	165.611	A	B
26: CuGa08-591	9	1517.500	168.611	A	B
3: CuGa09-2048	9	1533.500	170.389	A	B
28: CuGa08-623	9	1582.500	175.833	A	B
8: CuGa09-3106	9	1607.500	178.611	A	B
14: HOGA-67	9	1617.500	179.722	A	B
33: BLANCO SINALOA-92	9	1621.000	180.111	A	B
11: CuGa09-3214	9	1630.500	181.167	A	B
25: CuGa08-738	9	1631.000	181.222	A	B
6: CuGa08-3157	9	1716.500	190.722	A	B
24: CuGa08-740	9	1720.000	191.111	A	B
35: JG-62	9	1736.000	192.889	A	B
5: CuGa09-2031	9	1785.500	198.389	A	B
17: CuGa09-2004	9	1855.000	206.111	A	B
2: CuGa09-3162	9	1862.500	206.944	A	B
1: CuGa09-2054	9	1979.000	219.889		B
37: P-2245	9	2017.500	224.167		B
4: CuGa09-3122	9	2031.000	225.667		B
29: CuGa08-735	9	2043.500	227.056		B

37: Control Susceptible a la raza 0 y 5, 36: Control Resistente a la raza 0 y 5, 35: Control resistente y susceptible a las razas 0 y 5 respectivamente.

Confrontaciones *in-vitro* de Bacterias - *Fusarium oxysporum f.sp. ciceris*: Hasta el momento hubo efecto de los tratamientos con la variable dependiente, sin embargo se están recopilando datos pertinentes para revalorarlos y así mostrar el efecto para la variable de PICR. Los resultados preliminares se presentarán en la reunión.

CONCLUSIONES

Los 34 genotipos evaluados a ensayos de patogenicidad con FOC 0 Y 5 resultaron susceptibles a dichas razas patogénicas, en el caso de la raza 0 los genotipos más susceptibles fueron 20, 6 y 5. Sin embargo en el caso de la raza 5 los genotipos más susceptibles fueron 29,4 y 1.

LITERATURA CITADA

- Alcántar-Gonzales G., Trejo-Téllez L.I. y Gómez-Merino F.C. 2015. Nutrición de cultivos. Editorial MUNDI-PRENSA. UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHAPINGO. pp: 338-341 ISBN: 9789687462486
- Anales de Biología 26: 69-78.
- Anith K.N., Sreekumar A., Sreekumar J. 2015. The growth of tomato seedlings inoculated with co-cultivated *Piriformospora indica* and *Bacillus pumilus*. Symbiosis. 65:9-16.5.
- Dell'Amico E., Cavalca L., Andreoni V. 2008. Improvement of Brassicanapus growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. Soil Biol Biochem. 40:74-84.
- Ezziyyani M., Pérez S.C., Requena M.E., Rubio L. y Candela, M.E. 2004b. Biocontrol por *Streptomyces rochei* –Ziyani–, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*.
- Ezziyyani M.C., Pérez-Sánchez A.S., Requena M.E., y Candela M.E. 2004a. *Trichoderma harzianum* como fungicidas para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales Biol. 26: 35-45.
- FAOSTAT (2017). Production statistics of crops. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize> (Consultado, Enero 2019).
- Fernández R., Trapero A., Domínguez J. 2010. Experimentación en Agricultura. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.
- Galanihe L.D., Priyantha, M.G.D.L., Yapa, D.R., Bandara, H.M.S. y Ranasinghe, J.A.D.A.R. 2004. Insect pest and disease incidences of exotic hybrids chilli pepper varieties grown in the low country dry zone of Sri Lanka. Annals of Sri Lanka 6:99-106.
- Govindasamy V. y Senthilkumar M. 2011. *Bacillus* and *Paenibacillus* spp: Potential PGPR for sustainable agriculture. En: Maheshwari DK, editor. Plant growth and health promoting bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; p. 333-64.25
- Guerrero Z.J.A., Acosta G.B.M., Sánchez G.P.F., Ortega M.M.M. y González C. 2015. Razas patogénicas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en garbanzo cultivado en Guanajuato, México. Rev. Fitotec. Mex. 38: 183-190.
- Haware M.P. y Nene Y.L. 1982. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Plant Disease 66:809-810.
- Addinsoft. 2019. XLSTAT statistical and data analysis solution. Boston, USA. <https://www.xlstat.com>
- Jiménez D.R.M., Jiménez A., Hervás R. y Trapero C.J.L. 1993. Pathogenic variability and host resistance in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*/*Cicer arietinum* pathosystem. In: Arseniuk, E. and Goral, T. (Eds.). *Fusarium* mycotoxins, taxonomy, pathogenicity and host resistance. Proceeding of the 3rd European Seminar. Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzikov, Poland. 325:87-94.
- Jiménez G.M.M. y Jiménez D.R.M. 2003. Development of a specific PCR-based assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5, and 6. Phytopathology 93: 200-209.
- Jiménez G.M.M., Pérez A.E., Jiménez D.R.M. 2001. Identification of pathogenic races 0, 1B/C, 5, and 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* with random amplified polymorphic DNA (RAPD). Eur J Plant Pathol 107:237–248.

- Kelly A.G., Alcalá J.A.R., Bainbridge B.W., Heale J.B., Pérez A.E. y Jiménez D.R.M. 1994. Use of genetic fingerprinting and random amplified polymorphic DNA to characterize pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* infecting chickpea. *Phytopathology* 84:1293–1298.
- Kumar A., Prakash A. y Johri B.N. 2011. Bacillus as PGPR in crop ecosystem. En: Maheshwari DK, editor. *Bacteria in agrobiology cropecosystems*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; p. 37-59.
- Landa B.B. Navas-Cortés J.A., Jiménez-Gasco M.M., Katan J., Retig B. y Jiménez-Díaz R.M. 2006. Temperature Response of Chickpea Cultivars to Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, Causal agent of Fusarium Wilt.
- Leslie J.F. y Summerel B.A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, USA. 388p.
- Marlatt M., Correll J., Kaufmann P. y Copper P. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* race 3 in the United States *Plant Dis* 80:1336-1342.
- Montgomery D.C. 2004. *Diseño y Análisis de experimentos*. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México D.F. 686p.
- Navas-Cortés J.A., Landa B.B., Méndez-Rodríguez M.A. y Jiménez-Díaz R.M. 2007. Quantitative modeling of the effects of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races 0 and 5 on development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars. *Phytopathology*. 97:564-573.
- Ortega M.P.F., Manjarrez S.P., Fierros L.G.A., Salinas P.R.A., Padilla V.I., Gutiérrez P.E. y Castillo T.N. 2013. *Blanoro: Nueva Variedad de Garbanzo Blanco para Exportación*. INIFAP Campo Experimental Costa de Hermosillo. Sonora, México. 22p.
- Pineda-Mendoza D.Y. 2015. *Potencial de tres cepas de rizobacterias como antagonistas de Rhizoctonia solani en chile serrano (Capsicum annuum L.)*. Tesis de maestría en edafología. Colegio de Posgraduados, Área de Microbiología; Montecillo, Estado de México. México.
- Sharma K.D. y Muehlbauer, F. J. 2007. *Fusarium* wilt of chickpea: physiological specialization, genetics of resistance and resistance gene tagging. *Euphytica*. 157:1-14.
- Sharma K.D., Weidong C. y Muehlbauer F. 2005. Genetics of chickpea resistance to five races of *Fusarium* wilt and a concise set of race differentials for *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Dis*. 89:385-390.
- Sharma K.D.P., Winter G., Kahl y Muehlbauer F.J. 2004. Molecular mapping of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 3 resistance gene in chickpea. *Theoretical Applied Genetics* 108:1243-1248.
- SIAP. 2015. *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. http://infosiap.siap.gob.mx/agricola_siap_gb/icultivo/index.jsp (Consultado, Enero 2019).
- Tekeoglu M., Tullu A., Kaiser W. J., y Muehlbauer F. J. 2000. Inheritance and Linkage of Two Genes that Confer Resistance to Fusarium Wilt in Chickpea. *Crop Sci* 40:1247–1251.
- Trapero C.A. y Jiménez D.R.M. 1985. Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in Southern Spain. *Phytopathology* 75: 1146-1151.
- Velarde-Félix S., Ortega-Murrieta P.F., Fierros-Leyva G.A., Padilla-Valenzuela I., Gutiérrez Pérez E., Rodríguez-Cota F.G., López-Valenzuela J.A., Acosta-Gallegos J.A y Garzón-

Tiznado J.A. 2015. Identificación molecular y biológica de las razas 0 y 5 de *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & K. Sato del garbanzo en el noroeste de México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.4 p. 735-748. garzon24@uas.edu.mx.

Velarde-Félix S., Zamora-Galván F., Valdez-Rubio N., Cárdenas-Molina L., López-Molina R., Ángeles-Valdéz J. A., Fierros-Leyva G.A., Ortega-Murrieta P.F., Padilla-Valenzuela I. y Gutierrez-Pérez E. 2013. Distribución y presencia de la fusariosis del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el Noroeste de México y búsqueda de resistencia en condiciones controladas. In: Memoria Simposio Nacional de Garbanzo 2013. INIFAP. 54-64 pp.

Vishwa Dhar y Gurha S.N. 1998. Integrated Management of chickpea diseases. Chamola and Dubey, O.P.(eds.) ABH Publishing Co., New Delhi (India). 249p.

**ACTIVIDAD ANTITUMORAL, ANTICARCINOGENICA Y ANTIINFLAMATORIA DE COMPUESTOS Y FRACCIONES DEL FRUTO DE PAPACHE (*Randia echinocarpa*).
Manrique Ojeda Ayala¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Francisco Delgado Vargas^{2,3},
Idalia Enríquez Verdugo¹, Gabriela López Ángulo³, Ignacio Osuna Ramírez².**

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

¹Laboratorio de Parasitología, Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAS, Culiacán, Sinaloa, México.

²Unidad de Investigación en Salud Pública "Dra. Kaethe Willms", Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAS, CU, Culiacán, Sinaloa, México.

³Laboratorio de Química y Productos Naturales, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, UAS, CU, Culiacán, Sinaloa, México.

manriqueojedaa@gmail.com

RESUMEN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo; esta enfermedad ha mostrado una relación causal entre la alimentación y algunos contaminantes ambientales. Los tratamientos convencionales presentan efectos secundarios, siendo esta una limitante para su empleo. El uso de plantas medicinales como tratamiento alternativo, algunos de sus componentes han mostrado efectos anticarcinogénicos. Dentro de este grupo se encuentra *Randia echinocarpa* planta nativa del estado de Sinaloa, a la cual se le han registrado actividad antioxidante, antimutagénica e inmunomoduladora. El objetivo del presente estudio es demostrar la actividad antitumoral y antiinflamatoria *in vitro* y anticarcinogénica y antiinflamatoria *in vivo* de la mezcla de componentes no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de *Randia echinocarpa*. En este contexto hemos evaluado la actividad antioxidante de las fracciones del EMc de la pulpa del fruto mostraron buena actividad antioxidante por los métodos ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo). El EMc (20.167%), se fraccionó por partición líquido-líquido (ej. hexano, cloroformo, acetato de etilo), se obtuvieron las FAQ (17.01%), FAE (1.83%), FC (0.14%) y FH (1.117%). La actividad antioxidante *in vitro* se evaluó por los ensayos ABTS ($\mu\text{mol ET}$) y DPPH (IC_{50}), en el ensayo ABTS las FAQ (416.35) y FAE (490.03) mostraron mayor actividad, en DPPH fueron también FAE (70.67) y FAQ (90.17).

Palabras claves: Cáncer, plantas medicinales, *R. echinocarpa*, ABTS, DPPH.

ABSTRACT

Cancer is one of the leading causes of death in the world; this disease has shown a causal relationship between food and some environmental contaminants. Conventional treatments have side effects, being this a limitation for its use. The use of medicinal plants as an alternative treatment, in which some of their components have shown anti-carotenogenic effects, within this group is *R. echinocarpa* Sinaloa state's native plant, which has been registered antioxidant, antimutagenic and immunomodulatory activities. The objective of the present study is to demonstrate the antitumor and anti-inflammatory activity *in vitro* and anticarcinogenic and anti-inflammatory *in vivo* of the mixture of non-polar components of linoleic acid, palmitic acid and β -sitosterol (MAB) (5.03 / 5.0 / 1.5 p / p) and

of the aqueous fraction of the *Randiaechinocarpa* fruit. In this context we have evaluated the antioxidant activity of the EMc fractions of the fruit pulp. The EMc (20.167%), which was fractionated by liquid-liquid partition (e.g. hexane, chloroform, ethyl acetate), the FAQ (17.01%), FAE (1.83%), FC (0.14%) and FH (1.117%) were obtained. Antioxidant activity *in vitro* was evaluated by the ABTS ($\mu\text{mol ET}$) and DPPH (IC_{50}) essays, in the ABTS essay, the FAQ (416.35) and FAE (490.03), showed higher activity, in DPPH they were also FAE (70.67) and FAQ (90.17).

Keywords: Cancer, medicinal plants, *R. echinocarpa*, ABTS, DPPH.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo con 8.2 millones de defunciones en 2014. En México, el cáncer ocupa uno de los primeros lugares como causa de muerte (Rizo *et al.*, 2015). Existen diferentes tipos de tratamientos para el cáncer entre ellos se encuentran: cirugía, radioterapia, quimioterapia, inmunoterapia y terapia hormonal entre otros, los cuales presentan efectos secundarios lo cual representa su principal problema, al no poder distinguir células normales y cancerosas. Por lo cual se ha hecho énfasis en la búsqueda de nuevos medicamentos de fuentes naturales los cuales presenten menos toxicidad comparados con los tratamientos actuales.

Estudios epidemiológicos han demostrado una fuerte relación causal entre algunos tipos de cáncer y determinados hábitos, como el tabaquismo y la exposición a contaminantes ambientales, y también con el consumo de alimentos. Los hábitos dietarios están asociados con más de la tercera parte de los casos de cáncer. Al mismo tiempo, algunos componentes alimentarios han mostrado efectos anticarcinogénicos (Robles *et al.*, 2005).

El uso de plantas medicinales y suplementos dietarios es una práctica tradicional y vigente (Barthelsson *et al.*, 2006). Aproximadamente el 80% de la población mundial depende de remedios herbolarios tradicionales y al menos 35000 especies vegetales presentan potencial medicinal (Annan y Houghton, 2007). Los productos naturales, aunque fueron el origen de diversos fármacos, muchas empresas farmacéuticas disminuyeron o eliminaron las investigaciones sobre ellos. Entre las principales causas fueron su forma de estudio, la cual es muy lenta y laboriosa, es decir, se necesita una extracción, aislamiento y caracterización química y biológica detallada, entre otros. Sin embargo, ha resurgido el interés por la medicina herbolaria y sus productos naturales debido a su diversidad estructural que tiene una asociación directa con los múltiples usos etnobotánicos en diferentes culturas del mundo (Loraine y Mendoza, 2010; Jiménez, 2013).

Sinaloa posee una riqueza florística la cual incluye a una amplia variedad de plantas con frutos comestibles. Investigadores de la Universidad Autónoma de Sinaloa han registrado composición química y actividades biológicas de algunos de estos frutos, entre los cuales se encuentra el fruto de papache. El papache posee compuestos con actividad antimutagénica, antioxidante e inmunomoduladora (Santos *et al.*, 2007), lo que sugiere su potencial para la prevención/tratamiento del cáncer. Además, componentes específicos de una fracción hexánica (*i.e.* β -sitosterol y los ácidos linoleico y palmítico) presentan actividad antitumoral contra células de cáncer de mama MDA-MB-231 y gástrico AGS,

registrándose que inducen apoptosis. Información que sugiere la actividad anticarcinogénica del papache(Cano *et al.*, 2011). Es importante enfatizar que al β -sitosterol se le asociado actividad antiinflamatoria (Dumaro, Etim y Ahmuda 2017).

El objetivo de este trabajo será de mostrar la actividad antitumoral y antiinflamatoria *in vitro* y anticarcinogénica y antiinflamatoria *in vivo* de la mezcla de componentes no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de *Randia echinocarpa*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer constituye la primera causa de mortalidad en el mundo. Los tratamientos actuales contra dicha enfermedad presentan efectos secundarios como reacciones cutáneas y orales, problemas gastrointestinales, genitourinarios, alteraciones en la medula ósea, mielopatías, necrosis ósea, fibrosis pulmonar y miocarditis, siendo esto una limitante para su empleo.

La aplicación de tratamientos alternativos contra el cáncer incluye el uso de plantas medicinales; sin embargo, un gran número de plantas con potencial anticarcinogénico han sido escasamente estudiadas, lo que limita el adecuado uso del recurso florístico. El papache (*Randia echinocarpa*), planta nativa de Sinaloa usada tradicionalmente contra diferentes padecimientos, está en este grupo de plantas.

HIPÓTESIS

La mezcla de componentes no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y la fracción acuosa del fruto papache (*Randiaechinocarpa*) presentan actividades biológicas *in vitro* (antitumoral y antiinflamatoria) e *in vivo* (anticarcinogénica y antiinflamatoria).

OBJETIVO GENERAL

Demostrar la actividad antitumoral y antiinflamatoria *in vitro* y anticarcinogénica y antiinflamatoria *in vivo* de la mezcla de componentes no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de *Randiaechinocarpa*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar la composición química y actividad antioxidante *in vitro* y celular de la fracción acuosa del fruto papache.
2. Determinar la actividad antitumoral *in vitro* en líneas celulares de la mezcla de componentes no polares ácido linoleico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de papache.

3. Determinar la actividad antiinflamatoria *in vitro* de la mezcla de componentes no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de papache.
4. Caracterizar el perfil transcriptómico en líneas celulares en respuesta a la mezcla de componentes no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de papache.
5. Evaluar la actividad anticarcinogénica *in vivo* de una mezcla de compuestos no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de papache.
6. Evaluar la actividad antiinflamatoria *in vivo* de una mezcla de compuestos no polares ácido linoléico, ácido palmítico y β -sitosterol (MAB) (5.03/5.0/1.5 p/p) y de la fracción acuosa del fruto de papache.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Reactivos

Amortiguador de fosfatos (pH 7.4), ácido 2,2'-azino-*bis*(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox), disolventes orgánicos (metanol, cloroformo, hexano, y acetato de etilo), medio RPMI-1640. Suero fetal bovino, aminoácidos no esenciales, piruvato sódico 1 mM, L-glutamina 2 mM, estreptomycin/penicilina 100 x.

Material vegetal

Los frutos de papache se recolectaron de comunidades de Mocorito y Cosalá, Sinaloa, México. Los frutos se transportaron al laboratorio de química de productos naturales de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas. A los frutos de papache se les eliminó la cáscara leñosa y se recuperó la pulpa empleando un equipo de extracción centrifuga de jugos, en caso de ser necesario se añadió agua a las semillas para facilitar la remoción de la pulpa. La pulpa de papache se almacenó a -40°C y se secó en una liofilizadora (Modelo 5L Virtis Company Gardiner, USA). Las muestras liofilizadas se molieron y las harinas se pasaron por una malla número 40. Las harinas se almacenaron a -20°C y al abrigo de la luz hasta su uso.

Cultivo celular

Se emplearon líneas celulares, HCT-116, derivada de un carcinoma de colon humano (ATCC®), SK-LU-1, derivada de un adenocarcinoma de pulmón humano (ATCC®), MCF-7, de carcinoma humano de mama (ATCC®), PC3 derivada de un adenocarcinoma de próstata humano (ATCC®), U-937 derivada de un linfoma histiocítico de cerebro (ATCC®), K562 derivada de medula ósea humana (ATCC®) y COS-7, derivada de riñón de mono normales (ATCC®) en medio RPMI-1640, se mantuvieron a 37°C , en atmósfera de CO_2 al 5% y 95% de humedad relativa, fueron suplementadas con 10% de suero bovino fetal, 1% de aminoácidos no esenciales, 1 mM de piruvato sódico, 2 mM de L-glutamina y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de . Las células se mantuvieron hasta confluencia en frascos de plástico de 75 cm^2 estériles.

MÉTODOS

Preparación del extracto metanólico crudo de papache

El extracto metanólico crudo (EMc) del fruto *R. echinocarpa* se obtuvo de acuerdo a la metodología descrita por Wall *et al.* (1996). Harina del fruto secó (200 g) se extrajo con MeOH (1:5 p/v) por tres días en agitación y a temperatura ambiente (30°C), la suspensión se filtró diariamente, la fase líquida fue separada y el residuo fue resuspendido con solvente fresco (metanol); los filtrados se mezclaron y fueron concentrados con un rotavapor (40°C) para obtener el extracto metanólico, posteriormente se sometió a secado en una estufa de vacío (40°C) y se liofilizó.

Separación líquido-líquido del extracto metanólico

El extracto metanólico se fraccionó por partición líquido-líquido de acuerdo a la metodología descrita por Wall *et al.* 1996. El extracto metanólico crudo (160 g) se resuspendió en 100 mL de MeOH:H₂O (9/1 v/v) para iniciar la partición, para obtener la fracción hexánica se llevó a cabo la proporción MeOH:H₂O:Hexano (0.9:0.1:1, v/v), de la cual se separó la fracción hexánica y la fase metanólica, la fase metanólica se mezcló con CHCl₃:H₂O (1:1 v/v), para obtener las fases clorofórmica y acuosa, la fase clorofórmica se mezcló con NaCl_(ac) 10% (1:1 v/v) para obtener la fracción clorofórmica, la fase acuosa se mezcló con EtOAc (1:1 v/v) para obtener las fracciones acuosa y acetato de etilo. Las fracciones hexánica, clorofórmica y acetato de etilo se concentraron con un rotavapor (40°C) y la fracción acuosa se liofilizó, se almacenará a -20°C y se protegerá de la luz hasta su uso.

Actividad Antioxidante (AA) de las fracciones de papache

Ensayo ABTS

El radical ABTS se generó mediante la reacción de 7 mM de ABTS con 2.45 mM de persulfato de potasio (5 mL de ABTS 14 mM + 5 mL de persulfato 4.9 mM). La mezcla se incubó 16 h en oscuridad a temperatura ambiente y se tomaron alícuotas de 1 mL que se almacenaron a -70 °C hasta su uso. Para el ensayo, una de las alícuotas se diluyó con amortiguador de fosfatos (pH 7.4) hasta alcanzar una absorbancia entre 1.0 y 1.2 a 734 nm (ABTS diluido). En la evaluación de la actividad antioxidante, 50 µL de fracción, o 50 µL de solvente como control, se mezclaron con 1.95 mL de ABTS diluido y la mezcla se incubaron en oscuridad durante 10 min a 37 °C (Liu *et al.* 2009). Se prepararon una curva de calibración con Trolox. Para cada fracción, los resultados se expresaron como µmol equivalentes de Trolox (µmol ET)/ 100 g fracción seca.

Ensayo DPPH

En la determinación de actividad antioxidante por el método DPPH se utilizó el método recomendado por Limet *et al.* (2007) con algunas modificaciones: se mezclaron 0.2 mL de muestra con 1.8 mL de radical DPPH 150 µM en etanol. La reacción se incubó a temperatura ambiente (30 min/oscuridad) y se tomaron lecturas a 517 nm. La cuantificación de actividad antioxidante se determinó de la misma forma que en el ensayo de ABTS.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron por análisis de varianza de una vía y por comparación múltiple de medias mediante la prueba de Fisher. Los análisis se realizó con el software Statgraphics Plus versión 5.1 (StatisticsGraphics Corp., Madrid). Los experimentos se realizaron al menos por triplicado y se consideraron diferencias significativas a un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimientos de extracto metanólico y fraccionamiento por partición líquido-líquido

Los resultados obtenidos del Extracto Metanólico crudo del fruto de *R. echinocarpa* (20.167 % b.s.) fue inferior a los reportados por Santos-Cervantes *et al.* (2007) 72.17 % y Cano-Campos *et al.* (2011) 80.64%, reportados para el mismo fruto. Superiores a los registrados para diferentes partes de plantas del mismo género como hojas (10-15 %) y corteza (5-7%) de *R. dumetorum* (Kandimalla *et al.*, 2016), hojas de *R. hebecarpa* (7%) (Nazari *et al.*, 2006), corteza de *R. hispida* (6.6 %) (Dumaro, Etim y Ahmuda, 2017) y fruto de *R. dumetorum* (17%) (Satpute *et al.* 2009). En cuanto al rendimientos de las fracciones obtenidas por el fraccionamiento por partición líquido-líquido para la fracción acuosa (FAQ) (17.01%b.s.), fracción acetato de etilo (FAE) (1.83%b.s.), fracción hexánica (FH) (1.117%b.s.) y fracción clorofórmica (FC) (0.14%b.s.) son inferiores a excepción de la fracción acetato de etilo con los reportado por Cano-Campos *et al.* (2011) fracción acuosa (76.4%), fracción acetato de etilo (1.36%), fracción hexánica (0.62%) y fracción clorofórmica (2.12%) para el mismo fruto. Pero superior para la fracción acetato de etilo (0.68%) de *R. hebecarpa* (Nazari *et al.*, 2006).

Actividad antioxidante (AA) de las fracciones de papache

La actividad antioxidante de las fracciones de papache fueron superiores al evaluarse por ABTS (FAQ 416.35 $\mu\text{mol ET}$, FAE 490.03 $\mu\text{mol ET}$, FH 4.375 $\mu\text{mol ET}$ y FC 75.38 $\mu\text{mol ET}$), para las fracciones FAQ y FAE, que mostraron diferencia significativa con respecto a las fracciones FH y FC, similar a lo observado por DPPH (FAE 70.69, FAQ 90.17, FH 250.75 y FC 200.45, IC_{50}), donde las fracciones FAE y FAQ son las que mostraron diferencia significativa con respecto a FC y FH. Los resultados de actividad antioxidante por el método de DPPH fueron similares para la FAE (60.8) y FH (250) de *R. hebecarpa* (Nazari *et al.* 2006) La actividad antioxidante de muestras biológicas es importante antes las repercusiones del estrés oxidativo. Existen una serie de procesos patológicos atribuibles razonablemente al ataque de radicales libres, al menos estarían implicados en algunas de sus fases o secuencias bioquímicas (Ballester, 1996). Algunos procesos degenerativos y enfermedades están relacionados con el estrés oxidativo, entre las cuales se encuentra el envejecimiento, aterosclerosis, cáncer, insuficiencia renal aguda, tóxicos que alteran el estado redox, diabetes mellitus, hipertensión arterial, entre otros (Elejalde 2001). La diferencia entre los resultados de ABTS y DPPH con las fracciones del presente estudio pudiera asociarse a su obtención de frutos recolectados en diferentes lugares, que implica estuvieran sometidos a diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico. Este efecto "localidad" implica la generación de variabilidad en relación con el tipo y contenido

de metabolitos secundarios así como variaciones en la estructura química básicas por efecto de diferentes reacciones, ej., hidroxilación, metilación y epoxidación (Wink 1999). Esta variabilidad provoca perfiles metabólicos diferentes entre especies, entre los miembros de una población y entre los diferentes órganos de una planta, la cual se debe a una estrategia de adaptación de la misma (Castellanos y Espinosa-García 1997).

CONCLUSIONES

Las fracciones del fruto *R. echinocarpa* mostraron una alta actividad antioxidante *in vitro*, la cual fue superior para las FAQ y FAE por los métodos ABTS y DPPH.

LITERATURA CITADA

1. Annan K., Houghton P.J. 2008. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation of aqueous extracts of *Ficus asperifolia* Miq. And *Gossypium arboreum* L., wound-healing plants of Ghana. *Journal of Ethnopharmacology* 119(1):141-144. DOI: 10.1016/j.jep.2008.06.017
2. Ballester M.1996. Antioxidantes, radicales libres y salud. Un enfoque químico-orgánico-físico. *Med Clin* 107: 509-515.
3. Barthelson R.A., Sundareshan R.A., Galbraith R.A., Woosley R.A. 2006. Development of a Comprehensive Detection Method for Medicinal and Toxic Plant Species. *American Journal of Botany* 93(4): 566-574. DOI: 10.3732/ajb.93.4.566
4. Cano C.M.C, Díaz C.S.P., Uribe B.M.J., López A.G., Montes A.J., Paredes L.O., Delgado V.F. 2011. Bio-guided fractionation of the antimutagenic activity of methanolic extract from the fruit of *Randia echinocarpa* (Sessé et Mociño) against 1-nitropyrene. *Food Research International* 44(9):3087-3093. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.08.006
5. Castellanos I, Espinosa-García FJ. 1997. Plant secondary metabolite diversity as a resistance trait against insects: a test with *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and seed secondary metabolites. *Biochemical Systematics and Ecology* 25:591-602. DOI: 10.1016/S0305-1978(97)00045-8
6. Dumaro C.A., Etim E., Ahmadu A. A. 2017. Anti-inflammatory constituents of *Randia hispida* K.Schum (Rubiaceae). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 9(2): 160-164. DOI: 10.1055/s-0036-1578649
7. Elejalde G. J. I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna* 18: 50-59. ISSN 0212-7199
8. Jiménez C. 2013. El papel de los productos naturales en el mercado farmacéutico actual. *Anales de Química* 109(2):134-141. ISSN 1575-3417
9. Kandimalla, R., Kalita S., Saikai B., Choudhury B., Singh Y.P., Kalita K., Dash S., Kotoky J. 2016. Antioxidant and Hepatoprotective Potentiality of *Randia dumetorum* Lam. Leaf and Bark via Inhibition of Oxidative Stress and Inflammatory Cytokines. *Frontiers in Pharmacology*7: 205-205. DOI: 10.3389/fphar.2016.00205
10. Loraine S., Mendoza E.J. 2010. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 41(4):18-27. DOI: 10.org/articulo.oa?id=57916060003

11. Lim Y.Y., Lim T.T. y Tee J.J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* 103(3):1003-1008. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.08.038
12. Nazari AS, Dias SA, da Costa WF, Bersani-Amado CA, Vidotti GJ, de Souza MC, Sarragiotto MH. 2006. Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Randia hebecarpa* and Major Constituents. *Pharmaceutical Biology*. 44(1):7-9. DOI: 10.1080/13880200500496504
13. Robles A.F., Sanz S.F., López A.J.M., Beltrán A. M. 2005. Alimentación y cáncer. *Revista Española de Geriatria y Gerontología* 40(3):184-194. DOI: 10.1016/S0211-139X(05)74851-4.
14. Rizo R. P., González R. A, Sánchez C. F., Murguía M.P. 2015. Trends in cancer mortality in Mexico: 1990–2012. *Revista Médica del Hospital General de México* 78(2):85-94. DOI: 10.1016/j.hgmx.2015.03.010
15. Santos C.M.E, Ibarra Z. M., Loarca P.G., Paredes L.O., Delgado V. F. 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of *Randia echinocarpa* Fruit. *Plant Foods for Human Nutrition* 62(2):71-77. DOI: 10.1007/s11130-007-0044-x
16. Satpute K.L., Jadhav M.M., Karodi R.S., Karate R.S., Patil M.S., Rub R., Bafna A.R. 2009. Immunomodulatory activity of fruits of *Randia dumetorum* Lamk. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*1(3):36-40. DOI:
17. Wall M.E., Wani M.C., Brown D.M., Fullas F., Olwald J.B., Josephson F.F., Thornton N.M., Pezzuto J.M., Beecher C.W.W., Farnsworth N.R., Cordell G.A., Kinghorn A.D. 1996. Effect of tannins on screening of plant extracts for enzyme inhibitory activity and techniques for their removal. *Phytomedicine* 3(3):281-285. DOI: 10.1016/S0944-7113(96)80067-5
18. Wink M. 1999. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*. 2a ed. Boca Raton: CRC Press.481 p. ISBN: 978-1841270074

VARIACIÓN EN LA GERMINACIÓN ENTRE Y DENTRO DE POBLACIONES DE CHILE (*Capsicum annuum*) SILVESTRE DEL NOROESTE DE MÉXICO

Mario Humberto Valenzuela Romero

Mario Humberto Valenzuela Romero¹ y Sergio Hernández Verdugo²

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias; Facultad de Agronomía- Universidad Autónoma de Sinaloa. mario.humberto500@gmail.com

²Profesor investigador de la FA-UAS, Culiacán, Sinaloa, México.

Asesor: Antonio Pacheco Olvera. Profesor investigador de la Facultad de Agronomía.

Asesor: Jesús Enrique Retes Manjarrez.

El género *Capsicum* (Solanaceae) está constituido por alrededor de 30 especies (Hernández-Verdugo *et al.* 1999; Hernández-Verdugo 2018). Sin embargo, a pesar de su gran importancia económica, alimenticia y cultural para nuestro país, hacen falta estudios genéticos y/o ecológicos de las poblaciones silvestres y criollas que permitan conocer el estado en que se encuentra este recurso genético en la naturaleza y en el campo.

El potencial para la permanencia y el cambio evolutivo de las especies que viven en condiciones naturales depende de sus niveles de variabilidad genética y de la manera de cómo se distribuye ésta dentro y entre las poblaciones (Hamrick y Godt 1990). La selección natural actúa en aquellas poblaciones donde sus individuos presentan diferencias entre sí, y cuando tales diferencias tienen una base genética y son heredables. Una población o especie con bajos niveles de variación genética que vive en condiciones naturales puede ser exitosa en un ambiente determinado, o estar en riesgo de extinción cuando estas condiciones se modifican. La fragmentación y destrucción del hábitat en que se encuentran las poblaciones vegetales silvestres constituyen una seria amenaza para los recursos genéticos, por lo que es urgente el estudio y la estimación de la cantidad de variabilidad genética presente en las poblaciones silvestres de especies que actual o potencialmente son útiles para la humanidad (Vida 1994).

El conocimiento de la variación genética presente en los materiales silvestres es una de las condiciones básicas para su conservación y aprovechamiento, Los parientes silvestres de las plantas cultivadas son un valioso acervo genético que puede ayudar a la solución de problemas relacionados con la producción agrícola, tales como tolerancia o resistencia a plagas y enfermedades, así como la posibilidad de aumentar la cantidad y calidad de la producción (Hernández-Verdugo *et al.* 1998). Sin embargo, al ser el chile una planta herbácea o trepadora, que germina y se establece bajo la sombra de la vegetación arbórea, es altamente vulnerable al efecto de la deforestación acelerada que está ocurriendo en el país.

Esto hace que el estudio de la variabilidad de las poblaciones silvestres de *Capsicum* sea una tarea prioritaria para el manejo y conservación de este recurso genético tan importante.

El conocimiento de los factores ambientales que permiten el mantenimiento de las poblaciones vegetales en condiciones naturales es otro aspecto fundamental en el manejo y conservación de los recursos genéticos presentes en las parientes silvestres de las plantas cultivadas. La germinación de las semillas es un proceso de gran importancia para el establecimiento y sobrevivencia de las poblaciones naturales, que depende en parte de las condiciones de su hábitat y de otros aspectos de la historia de vida de la especie (Venable y Brown 1988). Después de que una semilla ha germinado, las plántulas son extremadamente vulnerables a los cambios ambientales y su destino depende de que las condiciones le sean propicias para llegar a la madurez. Por esto, normalmente se considera que la variación en los mecanismos que regulan la germinación de las semillas está bajo fuertes presiones selectivas, y la variabilidad dentro y entre las poblaciones de la misma especie se debe a adaptaciones locales o regionales al clima o a condiciones específicas de su hábitat (Meyer *et al.* 1997).

Estudios previos indican que el ácido giberélico puede romper la latencia de la semilla e inducir la germinación, frecuentemente es capaz de reemplazar la necesidad de estimulación del medio ambiente como luz y temperatura en varias especies vegetales (Evans A.S. *et al* 1996) incluyendo *Capsicum* (Hernandez-Verdugo *et al* 2001).

En estudios anteriores se ha demostrado que las poblaciones de chile silvestre del noroeste de México mantienen elevados niveles de variación entre y dentro de sus poblaciones (Hernández-Verdugo *et al.* 2001 y 2010), sin embargo se desconoce la base genética de esta variación.

En este estudio se coleccionarán frutos maduros de poblaciones de *C. annuum* silvestre del noroeste de México con el objetivo de determinar los niveles de variación en la capacidad de germinación entre y dentro de las poblaciones y los efectos del ácido giberélico sobre la germinación de semillas.

La distribución de la variación en la capacidad de germinación entre y dentro de las poblaciones y la proporción de esta variación que tiene una base genética se estimarán mediante los métodos de la Genética Cuantitativa.

Dentro de las características fenotípicas que se estudiarán se incluye la variación en la capacidad de germinación de las semillas de chile silvestre bajo diferentes concentraciones de ácido giberélico.

A pesar de que la germinación de las semillas es un proceso crucial en el establecimiento y sobrevivencia de las plántulas en condiciones naturales, no existen estudios sobre los niveles de variación genética entre y dentro de sus poblaciones, ni de la importancia del genotipo en la regulación de este carácter en *Capsicum*.

HIPÓTESIS

1. En el noroeste de México existe una gran cantidad de poblaciones silvestres y criollas que se encuentran viviendo en diferentes condiciones ecológicas.
2. Las poblaciones de chile silvestre varían significativamente entre y dentro de sus poblaciones en la capacidad de germinación de sus semillas sembradas bajo diferentes dosis de ácido giberélico.
3. Parte de la variación en la capacidad de germinación de las semillas de *C. annuum* silvestre tiene una base genética.

OBJETIVOS

Objetivo General

Colectar frutos maduros de plantas de chile silvestre (*Capsicum annuum*.) del estado de Sinaloa y estimar la distribución de la variación de la germinación entre y dentro de las poblaciones y el efecto del ácido giberélico en la germinación de semilla.

Objetivos particulares

1. Colectar frutos maduros de 20 plantas de 4 poblaciones de chile silvestre del estado de Sinaloa.
2. Estimar la distribución de la variación entre y dentro de poblaciones en la germinación de semilla de chile silvestre.
3. Estimar el efecto de diferentes dosis de ácido giberélico en la germinación de semilla de chile silvestre *C. annuum*.

METODOLOGÍA

I. Colecta de material biológico de poblaciones silvestres de chile

Material vegetal

Se colectarán frutos maduros de 20 plantas de cada población, los cuales se guardarán y etiquetarán de manera separada para obtener la semilla que se utilizará en los experimentos de germinación. Antes de los experimentos, se pesarán una muestra de 100 semillas de cada planta.

A partir de los frutos maduros colectados se obtendrán semillas para los experimentos en los cuales se estimará la distribución de la variación en la germinación de las semillas de poblaciones silvestres de chile.

II. Experimentos de germinación para estimar la variación entre poblaciones y dentro de poblaciones de chile silvestre

Los experimentos serán realizados con 4 tratamientos de 0, 125, 250 y 500 ppm de ácido giberélico. Se pondrán 100 semillas por planta, divididas en 4 repeticiones de 25 semillas

para cada uno de los tratamientos. Las semillas se sembraran en charolas para plántula, usando peat moss como sustrato.

La variable que se medirá será el porcentaje final de germinación. Antes de los análisis estadísticos, los porcentajes de germinación final se transformarán en sus valores arcosenos para aumentar la homogeneidad de las varianzas.

III. Análisis estadístico para determinar la distribución de la variación en la germinación entre y dentro de poblaciones.

Se hará un análisis de varianza anidado en cada uno de los tratamientos de ácido giberélico, para determinar la distribución de las cantidades de variación entre poblaciones, entre familias dentro de poblaciones y dentro de familias.

Se harán pruebas múltiples de medias para determinar la variación entre poblaciones y entre tratamientos.

LITERATURA CITADA

Hamrick J. T. y Godt M. J. W. 1990. Allozyme diversity in plant species. En:

Brown H. D., Clegg M. T., Kahler A. L. Y Weir B. S. Eds. Plant population genetics, breeding, and genetics resources. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 43-63.

Hernández-Verdugo S., Guevara-González R.G., Rivera-Bustamante R.F.,

Vázquez-Yanes C. y Oyama K. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum* spp.) como recursos genéticos. Boletín de la Sociedad Botánica de México 62: 171-181. ISSN: 0185-3619, DOI: 10.17129/botsci.1559.

Hernández-Verdugo S., Dávila S. y Oyama K. 1999. Síntesis del conocimiento

taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. Boletín de la Sociedad Botánica de México 64: 65-84. ISSN: 0185-3619, DOI: 10.17129/botsci.1583.

Hernández-Verdugo S., Oyama K. y Vázquez-Yanes. 2001. Differentiation in

seed germination among populations of *Capsicum annuum* along a latitudinal gradient in Mexico. Plant Ecology. 155: 245-257. ISSN: 1573-5052, DOI: 10.1023/A:1013234100003

Hernández-Verdugo S., López E.R.G., Porrás F., Parra T.S., Villarreal R.M., Osuna E. 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre.

Agrociencia 44: 667-677. ISSN: 1405-3195,
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30215554005>.

Hernández-Verdugo S. EL CHILE SILVESTRE Ecología, Evolución y Genética. 2018.
Colegio de Postgraduados, Universidad Autónoma de Sinaloa.

ISBN Colegio de Postgraduados: 978-607-715-363-4.

ISBN Universidad Autónoma de Sinaloa: 978-607-737-216-5

Meyer S.E., Allen P.S. y Beckstead J. 1997. Seed germination regulation in

Bromus tectorum (Poacea) and its ecological significance. *Oikos* 78:475-485.

ISSN: 0030-1299, DOI: 10.2307/3545609.

Venable D. L. y Brown J. S. 1988. The selective interaction of dispersal, dormancy, and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *The America Naturalist* 131: 360-384.

ISSN: 0003-0147. DOI: 10.1086/284795.

Vida G. 1994. Global issues of genetic diversity. En: Loeschke V., Tomiuj J. y Jain. Edrs. *Conservation Genetics*. Birkäuser Verlag, Basel. pp. 9-19. ISSN: 1023-294X. DOI:

**FERTILIZACIÓN INTEGRAL Y MANEJO DEL CO₂ PRODUCIDO POR EL
COMPOSTAJE EN EL CULTIVO PROTEGIDO DE CHILE JALAPEÑO**
Olivia Vanessa Encines Chaidez , Felipe Ayala Tafoya, Tomás Díaz Valdés, Teresa de
Jesús Velázquez Alcaraz, Marino Valenzuela López, Juan Martín Parra Delgado

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias. Facultad de
Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. vanexa_07@hotmail.com

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar la contribución de los fertilizantes sintéticos y orgánicos, así como del CO₂ producido durante el compostaje, en el crecimiento de las plantas y el rendimiento de chile jalapeño bajo condiciones protegidas. Se usó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial de 2x2x2. Se estudiaron dos niveles por factor con y sin aplicación, formándose un total de ocho tratamientos, estableciéndose tres repeticiones por tratamiento. Los resultados de las mediciones del CO₂, indicaron interacciones significativas entre los factores de estudio, sin embargo el compostaje junto con la fertilización convencional y orgánica fueron los tratamientos que más influyeron para elevar la concentración de CO₂ en el aire, 98% más que en el tratamiento Testigo. En cuanto al crecimiento de las plantas de chile jalapeño, se evaluaron el diámetro y longitud de tallo, el verdor foliar y la producción de biomasa fresca y seca de hojas y tallos, donde los tratamientos con compostaje más fertilización convencional u orgánica (vermicomposta) promovieron las mejores respuestas. En cuanto a los mayores rendimientos de chile jalapeño fueron obtenidos con los Tratamientos 1 (compostaje + fertilización convencional + fertilización orgánica), 5 (fertilización convencional + fertilización orgánica), 2 (compostaje + fertilización convencional) y 6 (fertilización convencional), en ese orden.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., compostaje, vermicomposta, fertilizantes sintéticos, bióxido de carbono.

ABSTRACT

The present investigation was carried out with the objective of determining the contribution of synthetic and organic fertilizers, as well as the CO₂ produced during composting, in the growth of plants and the yield of jalapeño pepper under protected conditions. A random block design with a 2x2x2 factorial arrangement was used. Levels were studied by factor with and without application, forming a total of eight treatments, establishing three repetitions per treatment. The results of the measurements of CO₂, indicate the interactions between the factors of the study, however, composting along with conventional and organic fertilization, the treatments that influence more for the concentration of CO₂ in the air, 98% more than in the control treatment. Regarding the growth of the jalapeño pepper plants, stem diameter and length, foliar verdure and the production of fresh and dry biomass of leaves and stems were evaluated, where the

treatments with composition plus conventional or organic fertilization (vermicompost) promoted the best answers. Regarding the highest yields of jalapeño pepper were related to Treatment 1 (composting + conventional fertilization + organic fertilization), 5 (conventional fertilization + organic fertilization), 2 (composting + conventional fertilization) and 6 (conventional fertilization), in that order.

Key words: *Capsicum annuum* L., composting, vermicompost, synthetic fertilizers, carbon dioxide.

INTRODUCCIÓN

La tendencia actual en la agricultura es encontrar alternativas de cultivo que incrementen el rendimiento y disminuyan o eliminen el uso de fertilizantes sintéticos, plaguicidas y reguladores del crecimiento, con los cuales se corre el riesgo de contaminar el ambiente (Johnson, 1997; Moreno *et al.*, 2005). Así, en la búsqueda de alternativas de desarrollo sostenible, procesos como el compostaje y los productos derivados del mismo, han adquirido un especial auge por su capacidad de restituir al suelo una cierta proporción de materia orgánica (MO) para mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas, las cuales se han visto deterioradas por el uso continuo y exclusivo de fertilizantes sintéticos bajo producción intensiva de cultivos (Johnson, 1997; Melgarejo *et al.*, 1997; Dhulla *et al.*, 2004).

La vermicomposta eleva la productividad de las especies de plantas cultivadas, en virtud de contener los nutrientes esenciales para las plantas, aunque en menores concentraciones que los fertilizantes sintéticos (Rodríguez *et al.*, 2001; Subler y Edwards, 1998). A pesar de ello, los fertilizantes orgánicos deben valorarse también porque ejercen un efecto multilateral en las propiedades agronómicas del suelo, al contribuir en el mantenimiento y desarrollo de la microflora y microfauna (De Brito *et al.*, 1995; Rodríguez *et al.*, 2001; Dhulla *et al.*, 2004), que a su vez incrementa la disponibilidad y asimilación de los nutrientes por las raíces (De Brito *et al.*, 1995; Atiyeh *et al.*, 2000; Pasqualoto *et al.*, 2002).

Los fertilizantes orgánicos son ricos en hormonas que estimulan los procesos biológicos de las plantas (De Brito *et al.*, 1995; Subler y Edwards, 1998; Pasqualoto *et al.*, 2002; Dhulla *et al.*, 2004); contienen materia orgánica, ácidos húmicos y fúlvicos que mejoran las características fisicoquímicas del suelo (Johnson, 1997; Subler y Edwards, 1998; Atiyeh *et al.*, 2000). Lo anterior explica el uso de materiales orgánicos como una alternativa importante para la recuperación de la fertilidad de los suelos y sugiere enormes beneficios al establecimiento de sistemas de fertilización integral (Matheus, 2004), basadas en el aprovechamiento complementario de fertilizantes artificiales y orgánicos que garanticen la efectividad y disponibilidad inmediata de los nutrimentos minerales esenciales, además de la acción residual y el efecto mejorador sobre las propiedades físicas y biológicas de los suelos, proporcionado por los fertilizantes orgánicos.

Durante el proceso de compostaje, los residuos orgánicos se descomponen bajo la acción de diversos microorganismos y factores ambientales, y los productos principales son CO₂, H₂O, iones minerales y MO estabilizada, rica en sustancias húmicas que recibe el

nombre de humus (Atiyeh *et al.*, 2000a; Soto y Muñoz, 2002; Pereira y Zezzi-Arruda, 2003).

Las plantas tienen la capacidad de captar el CO₂ atmosférico y mediante procesos fotosintéticos, metabolizarlo para la obtención de azúcares y otros compuestos que requieren para el normal desarrollo de su ciclo vital. En general, se puede concluir que las plantas, a través de la fotosíntesis, extraen el carbono de la atmósfera (en forma de CO₂) y lo convierten en biomasa. La biomasa al descomponerse se convierte en parte del suelo (en forma de humus) o en CO₂ a través de la respiración de los microorganismos que procesan la biomasa.

Romero-Yam *et al.* (2015) analizaron el compostaje de sustratos de cachaza con gallinaza, y encontraron que aquellos con mayor proporción de gallinaza (7:3 y 5:5 v/v) mostraron mayores concentraciones de CO₂ durante todo el proceso de compostaje (6,908 y 5,573 ppm, respectivamente); así como las mayores poblaciones de bacterias, hongos y microorganismos ligninolíticos. Kalamdhad *et al.* (2008) indican que la evolución del CO₂ en el proceso de compostaje se encuentra directamente correlacionada con la respiración microbiana aerobia, y por lo tanto, la actividad biológica de los grupos microbianos aerobios.

Mogollón *et al.* (2014) evaluaron la actividad biológica de tres suelos degradados por sales al agregarles 1% de vermicomposta (p/p) y observaron incrementos en la respiración edáfica equivalentes a 103, 175 y 293% con respecto al suelo sin vermicomposta. Sotelo *et al.* (2004) evaluaron la actividad biológica por medio de la respiración en el proceso de compostaje de diferentes residuos domiciliarios y registraron una actividad microbiana inicialmente alta, de 15,000 a 35,000 mg CO₂, a los 7 días, la cual tendió a disminuir de 16,000 a 7,000 mg de CO₂ respirado por cada 50 cm³ de composta, a los 21 días, donde la variación de actividad respiratoria reflejó la intensidad de degradación de cada material empleado. Franch (2015) realizó una evaluación técnica y ambiental del vermicompostaje de estiércoles (ovino, caprino y conejo), residuo de café y la mezcla de todos los materiales y, con respecto a la emisión de CO₂ durante el proceso de vermicompostaje, encontró que la presencia de lombrices en los sustratos evaluados provocaron un incremento en la emisión de CO₂ debido a la respiración, donde el valor promedio obtenido fue de 968.5 mg de CO₂/h, superior estadísticamente al obtenido con el tratamiento sin lombrices que fue de 557.3 mg de CO₂/h.

PROBLEMA CIENTÍFICO

La composta es el producto generalmente aprovechado del proceso de compostaje, un abono orgánico en expansión por su capacidad de restituir al suelo materia orgánica para mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas, las cuales son deterioradas por el uso continuo y exclusivo de fertilizantes sintéticos bajo condiciones de producción intensivas de cultivo, mientras que el CO₂ producido durante dicho proceso es emitido hacia la atmósfera y desperdiciado, por lo que se desconoce el beneficio que se puede conseguir, si se utiliza solo o en interacción con la fertilización convencional y orgánica, en el cultivo protegido de Chile jalapeño.

HIPÓTESIS

El CO₂ producido durante el compostaje induce a las plantas de chile jalapeño, manejadas con fertirrigación convencional, orgánica o integral, a expresar mayores índices de crecimiento y potencial de rendimiento.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la contribución de los fertilizantes sintéticos y orgánicos, así como del CO₂ producido durante el compostaje, en el crecimiento de las plantas y el rendimiento de chile jalapeño bajo condiciones protegidas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Conocer la contribución del compostaje, así como de los fertilizantes sintéticos y orgánicos aplicados al suelo, en la concentración de CO₂ en el ambiente aéreo del cultivo protegido de chile jalapeño.

Determinar la contribución de los fertilizantes sintéticos y orgánicos, así como del CO₂ producido durante el compostaje, en el crecimiento de plantas de chile jalapeño cultivadas bajo condiciones protegidas.

Estimar el efecto de los fertilizantes sintéticos y vermicomposta, aplicados al suelo, y del CO₂ generado del compostaje, en la eficiencia fotosintética de plantas de chile jalapeño bajo condiciones de cultivo protegido.

Determinar la contribución de los fertilizantes sintéticos y orgánicos, así como del CO₂ producido durante el compostaje, en el rendimiento de chile jalapeño. Determinar la contribución de los fertilizantes sintéticos y orgánicos, así como del CO₂ producido durante el compostaje, en el rendimiento de chile jalapeño bajo condiciones protegidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y características del sitio del experimento

El trabajo de investigación se realizó en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, sito en el km 17.5 de la maxipista Culiacán-Mazatlán, y localizado geográficamente a 24° 37' 30" latitud Norte y 107° 26' 30" longitud Oeste, a una altitud de 38.54 m, dentro de una estructura de protección tipo "casa sombra" con estructura metálica de 4.0 m de altura y una superficie total de 3200 m². La cubierta o techumbre tiene malla antiáfidos de 16 x 10 hilos cristalinos por cm² y en las bandas malla anti-trip con 20 hilos cristalinos x 10 hilos negros por cm².

El suelo del sitio experimental es del tipo vertisol crómico, de color gris oscuro cuando seco y gris al humedecerse, cuyo drenaje superficial es regular. La capacidad de campo del suelo es de 64% y el punto de marchitamiento permanente de 39%, por lo que la humedad aprovechable es de 25%, con base en el peso de suelo seco. Su contenido de materia orgánica es menor a 1%; con menos de 0.002% de nitrógeno, alrededor de 17.5 y 300 mg kg⁻¹ de fósforo y potasio, respectivamente; pH entre 7.5 y 8, y conductividad

eléctrica menor de 1.0 dS m⁻¹. El clima de Culiacán es BS₁(h')w(w) (e): semiseco muy cálido extremo con lluvias de verano, porcentaje de precipitación invernal con respecto al total anual menor de cinco.

Construcción de túneles para el compostaje y cultivo de chile jalapeño

Se construyeron estructuras de metal y plástico tipo túnel, de 1.0 m de ancho y alto, también llamados mini-invernaderos (invernaderos a pequeña escala), para poder manejar el CO₂ producido por la respiración de flora y fauna activa en el compostaje. Para la construcción de los túneles se utilizó alambre galvanizado calibre 10 y alambón, con los cuales se hicieron arcos que fueron colocados sobre las camas de cultivo a una distancia de 1.5 m entre alambres. Posteriormente, sobre la estructura se colocó manualmente una película de plástico transparente, fijando con tierra en los extremos y laterales del plástico. Dentro de una parte (50%) de los túneles se situaron las plantas de chile jalapeño y en la otra parte de los mismos se colocaron contenedores (mitades de tambos de 200 litros) de compostaje, los túneles fueron del tipo abatible para permitir la apertura parcial o total de los mismos, y con ello, el mantenimiento del compostaje y/o el manejo agronómico de las plantas de chile jalapeño.

Elaboración de la composta

Para la elaboración de la composta en este proyecto en particular, se utilizaron las siguientes materias primas: estiércol de bovino, esquilmos secos como cascarilla de arroz y alfalfa como material verde, tierra aluvial, además de melaza y levadura para activar el proceso de descomposición.

Trasplante

El trasplante se realizó de forma manual, el 12 de diciembre de 2017. La separación entre plantas fue de 0.25 m, a hilera doble, para una densidad de 22,222 plantas por hectárea.

Diseño experimental

En el experimento se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial 2x2x2 (Cuadro1). Los tres factores, A: compostaje (CO₂), B: fertilización convencional (fertilizantes sintéticos) y C: fertilización orgánica (vermicomposta), fueron utilizados con los respectivos niveles: con (1) y sin (2). De la combinación de factores y niveles se obtuvieron ocho tratamientos (Cuadro1), los cuales se replicaron tres veces.

Cuadro 1. Diseño de tratamientos (T).

Nomenclatura	Descripción
T1 (A1B1C1)	Compostaje + Fertilización convencional + Fertilización orgánica
T2 (A1B1C2)	Compostaje + Fertilización convencional
T3 (A1B2C1)	Compostaje + Fertilización orgánica
T4 (A1B2C2)	Compostaje
T5 (A2B1C1)	Fertilización convencional + Fertilización orgánica
T6 (A2B1C2)	Fertilización convencional
T7 (A2B2C1)	Fertilización orgánica

VARIABLES DE RESPUESTA

Las variables de respuesta fueron:

Emisiones de CO₂ del compostaje. Semanalmente a partir del inicio del compostaje, en cada tratamiento se registraron las emisiones de CO₂ mediante un medidor de CO₂ (CO₂-100, Amprobe).

Crecimiento de plantas. Cada siete días se midieron, en cuatro plantas por repetición, las siguientes características: longitud de tallo, desde la base del cuello de la planta hasta su ápice de crecimiento, con cinta métrica; diámetro de tallo, en el primer entrenudo, con vernier digital (CALDI- *Eficiencia fotosintética de plantas.* Se estimó a partir de la producción de biomasa de planta total, la cual se midió al final del ciclo de la planta, secando la planta en un horno eléctrico 292 de marca Felisa y midiendo el peso seco en una balanza de precisión CP622 marca Sart6MP, Truper Herramientas); verdor foliar, con clorofilímetro (SPAD 502, Minolta).

Rendimiento de frutos. Para determinar el rendimiento experimental de chile jalapeño, se cosecharon los frutos en estado de madurez comercial, se pesarán con báscula (OCS-20A, CRT Global) y clasificarán en los calibres comerciales.

Los resultados de las variables evaluadas en la presente investigación fueron procesados con el paquete InfoStat versión 2018, Se les realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de CO₂ en el aire interno del túnel mostró diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) por causa de los tratamientos (Cuadro 2), es decir, debido a la interacción de los tres factores de estudio: Compostaje (C), fertilización convencional (FC) y fertilización orgánica (FO). Se observaron diferencias entre los cuatro tratamientos que incluyeron compostaje, donde la concentración de CO₂ en T1 (C+FC+FO) superó en 25.9, 43.9 y 53% a las registradas en T3 (C+FO), T2 (C+FC) y T4 (C). Las dos menores concentraciones de CO₂ (estadísticamente iguales) se registraron en el aire de los Tratamientos 6 (FC: 390.33 $\mu\text{mol mol}^{-1}$) y 8 (Testigo: 330.4 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). Así, la mayor contribución al incremento del CO₂ en el ambiente aéreo del cultivo protegido fue ocasionada por el compostaje, debido a la descomposición de los materiales orgánicos y la respiración de los microorganismos (Sotelo, 2004; Velasco-Velasco *et al.*, 2004; Franch *et al.*, 2015). Seguido por la contribución de la vermicomposta aplicada al suelo (FO), con la cual se incrementaron las poblaciones de microorganismos y la respiración edáfica (Kanangara *et al.*, 2004; Sotelo *et al.*, 2004), y la contribución de los fertilizantes sintéticos (FC), ya que gran parte de la significancia de los microorganismos se expresa al mantener un balance adecuado entre el suelo, la nutrición vegetal y la microbiota nativa. El punto en donde se llevan a cabo las interacciones más importantes es la rizósfera, de modo que en una manera general se puede decir que la sostenibilidad depende de mantener buenas

condiciones físicas, químicas y biológicas en el suelo (Stewart, 2003).

El crecimiento de las plantas de chile jalapeño manifestó diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) por causa de los tratamientos (Cuadro 2), es decir, debido a la interacción de los tres factores de estudio: Compostaje (A), fertilización convencional (B) y fertilización orgánica (C). En el Cuadro 2 se puede observar que los mayores diámetros de tallo se registraron en las plantas de los Tratamientos 1 (C+FC+FO), 2 (C+FC), 5 (FC+FO) y 6 (FC) cuyo valor medio superó en 21.9% al diámetro promedio de las plantas de los Tratamientos 3 (C+FO) y 7 (C) y en 53% al promedio del diámetro de tallo registrado en las plantas de los Tratamientos 4 (C) y 8 (Testigo). De lo cual se puede deducir que el aporte adicional del CO₂ producido por el proceso de compostaje, promovió el grosor del tallo de las plantas, ya que tienen la capacidad de captar el CO₂ atmosférico y mediante procesos fotosintéticos, metabolizarlo para la obtención de azúcares y otros compuestos que requieren para el normal desarrollo de su ciclo vital, las plantas, a través de la fotosíntesis, extraen el carbono de la atmósfera (en forma de CO₂) y lo convierten en biomas (Atiyeh, 2000).

Para la variable longitud de tallo, las plantas de chile jalapeño expresaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) debido a la interacción de los tres factores de estudio (Cuadro 1), Compostaje (A), fertilización convencional (B) y fertilización orgánica (C). El crecimiento longitudinal de las plantas de chile jalapeño del Tratamiento 1 (C+FC+FO) expresó el valor más alto, con una media de 128.75 cm, 43.6% superior a la media de longitud de planta del Tratamiento 8 (Testigo).

En cuanto al verdor foliar (Cuadro 2), los valores SPAD más altos: 88.70 y 83.37, se encontraron en las plantas de los respectivos Tratamientos 1 (C+FC+FO) y 5 (FC+FO), estadísticamente iguales entre sí. El promedio de estos dos tratamientos (86.04) superó en 52.85% al verdor foliar que presentaron las hojas de las plantas de los tratamientos 4 (C) y 8 (Testigo). Los valores SPAD están estrechamente relacionados con la concentración de clorofila en las hojas de la mayoría de las plantas cultivadas (Buck, 1999); con el estado nutricional de las plantas, especialmente relativo a la fertilización nitrogenada (Marull *et al.*, 1999); y con el crecimiento vegetativo vigoroso, alta actividad fotosintética, así como, la síntesis de carbohidratos, de lo cual depende el rendimiento (Buck, 1999).

Cuadro 2. Influencia de los tratamientos sobre la concentración de CO₂ en el aire interno del túnel y características del crecimiento de las plantas de chile jalapeño cultivadas bajo condiciones protegidas.

Factor de variación	CO ₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de tallo (cm)	Verdor (valores SPAD)
T1=A1B1C1	990.60 a*	16.96 a	128.75 a	88.70 a
T2=A1B1C2	688.20 c	16.84 a	105.50 b	75.47 b
T3=A1B2C1	787.07 b	13.99 b	86.08 d	71.13 b
T4=A1B2C2	647.60 c	11.04 c	61.25 f	58.27 c
T5=A2B1C1	514.67 d	16.69 a	103.75 bc	83.37 a
T6=A2B1C2	390.33 e	16.31 a	96.75 c	74.67 b
T7=A2B2C1	465.33 d	13.41 b	73.08 e	71.00 b

T8=A2B2C2	330.40 e	10.77 c	56.17 f	54.30 c
DMS	68.3	1.3	8.3	5.6

A=Compostaje. B=Fertilización convencional. C=Fertilización orgánica. 1=Con. 2=Sin. DMS=Diferencia mínima significativa. *Medias con letras iguales dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

Con respecto a la biomasa de hoja y tallo, tanto fresca como seca, éstas presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) debido a la interacción de los tres factores de estudio: compostaje (C), fertilización convencional (FC) y fertilización orgánica (FO). Como se muestra en el Cuadro 3, En cuanto a la biomasa fresca de tallo, los 276.33 g obtenidos por las plantas del Tratamiento 1 (C+FC+FO) superaron en 330% a las plantas de los Tratamientos 4 (C) y 8 (Testigo). De la misma manera, el valor más alto de biomasa fresca de hojas fue obtenido en las plantas del Tratamiento 1 (C+FC+FO), que con una media de 277.25 g superó en 440% a las plantas testigo. La producción de biomasa seca de hoja del Tratamiento 1 (C+FC+FO), de 66.09 g/planta, fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos, mientras que los valores más bajos: 28.23 y 25.69 g, se registraron en las plantas de los Tratamientos 4 (C) y 8 (Testigo), respectivamente. Como se aprecia en el Cuadro 3, la biomasa seca de tallo de plantas del Tratamiento 1 (C+FC+FO), con una media de 56.99 g/planta, fue estadísticamente mayor al resto de los tratamientos y, hasta 326% superior comparado con las plantas Testigo (17.47 g). El CO₂ captado por las plantas es el resultado de la diferencia entre el CO₂ atmosférico absorbido durante el proceso de la fotosíntesis y el CO₂ emitido a la atmosfera durante la respiración. Esta diferencia es convertida en biomasa y suele oscilar entre el 45 y 50% del peso seco de la planta (Soto, 2005).

Cuadro 3. Influencia de los tratamientos en el peso fresco y seco de las plantas de chile jalapeño cultivadas bajo condiciones protegidas.

Factor de variación	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
	Tallo	Hojas	Hojas	Tallo
T1=A1B1C1	276.33 a*	277.25 a	69.06 a	56.99 a
T2=A1B1C2	232.83 b	223.67 b	46.38 c	43.32 b
T3=A1B2C1	163.92 d	117.08 c	40.57 de	34.70 c
T4=A1B2C2	84.75 e	71.75 d	28.23 f	22.04 d
T5=A2B1C1	216.25 bc	236.67 b	59.13 b	47.68 b
T6=A2B1C2	181.42 cd	211.92 b	45.98 cd	38.49 c
T7=A2B2C1	133.75 d	126.00 c	36.28 e	25.94 d
T8=A2B2C2	80.67 e	62.42 d	25.69 f	17.47 e
DMS	47.7	40.0	5.5	4.5

A=Compostaje. B=Fertilización convencional. C=Fertilización orgánica. 1=Con. 2=Sin. DMS=Diferencia mínima significativa. *Medias con letras iguales dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

El rendimiento total y por tamaños comerciales también presentó diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) por causa de los tratamientos (Cuadro 3). En el cuadro se puede

observar que el mayor rendimiento se registró en las plantas del Tratamiento 1 (C+FC+FO), cuyo valor medio (61.76 t ha⁻¹) superó 16 veces al obtenido con los Tratamientos 4 (C) y 8 (Testigo), con medias de 4.04 y 3.04 t ha⁻¹, respectivamente.

Los mayores rendimientos de chile jalapeño de tamaño grande, se obtuvieron con los Tratamientos 1 (C+FC+FO), 5 (FC+FO), 2 (C+FC) y 6 (FC), cuyas medias fueron de 26.84, 25.64, 23.72 y 20.27 t ha⁻¹, respectivamente.

Para los frutos de chile jalapeño de tamaño mediano, el mayor rendimiento se observó en el Tratamiento 1 (C+FC+FO), con una media de 21.99 t ha⁻¹, 14 veces mayor a la media de los Tratamientos 4 (C) y al Tratamiento Testigo, cuyas medias fueron estadísticamente iguales.

Respecto a los frutos de chile jalapeño de tamaño chico, como se observa en el Cuadro 3, el rendimiento del Tratamiento 1 (C+FC+FO: 12.92 t ha⁻¹) superó 43% a los Tratamientos 2 (FC+FO) y 6 (FC), los cuales fueron estadísticamente iguales entre sí, de igual manera, el T1 (C+FC+FO) fue 11 veces mayor a la media de los Tratamientos 4 (C) y 8 (Testigo), sin diferencia significativa.

Estos resultados sugieren que, de no mantenerse una fertilización adecuada, se corre el riesgo de disminuir el potencial de rendimiento, principalmente por una reducción en la concentración de N total. Este riesgo puede evitarse con el uso de compost, ya que tiene un aporte de microorganismos benéficos, que supone que su adición al suelo favoreció el desdoblamiento y asimilación de la fertilización sintética (Seuferet *et al.*, 2012).

Cuadro 4. Influencia de los tratamientos en el rendimiento de chile jalapeño cultivado bajo condiciones protegidas.

Factor de variación	Rendimiento (t ha ⁻¹)			
	Total	Grande	Mediano	Chico
T1=A1B1C1	61.76 a*	26.84 a	21.99 a	12.92 a
T2=A1B1C2	46.24 bc	23.72 ab	13.40 b	9.13 b
T3=A1B2C1	16.30 d	6.09 c	4.62 c	5.60 c
T4=A1B2C2	4.04 e	4.25 d	1.56 d	1.23 d
T5=A2B1C1	51.09 b	25.64 a	15.38 b	10.07 ab
T6=A2B1C2	41.17 c	20.27 b	12.70 b	8.20 bc
T7=A2B2C1	15.04 d	5.15 cd	4.57 c	5.31 c
T8=A2B2C2	3.04 e	0.87 e	1.27 d	0.90 d
DMS	6.6	4.2	2.9	2.9

A=Compostaje. B=Fertilización convencional. C=Fertilización orgánica. 1=Con. 2=Sin. DMS=Diferencia mínima significativa. *Medias con letras iguales dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, p≤0.05).

CONCLUSIONES

El compostaje ocasionó que la concentración de CO₂ casi se duplicara (98%) dentro del túnel.

Las mejores características de crecimiento de las plantas de chile jalapeño (diámetro de tallo, longitud de tallo, verdor foliar, biomasa fresca y seca de planta, hoja y tallo) fueron

promovidos por los Tratamientos 1 (Compostaje + Fertilización convencional + Fertilización orgánica), 5 (Fertilización convencional + Fertilización orgánica) y 2 (Compostaje + Fertilización convencional), en ese orden.

Los mayores rendimientos de chile jalapeño fueron obtenidos con los Tratamientos 1 (Compostaje + Fertilización convencional + Fertilización orgánica), 5 (Fertilización convencional + Fertilización orgánica), 2 (Compostaje + Fertilización convencional) y 6 (Fertilización convencional), en ese orden.

Las emisiones más altas de CO₂ se lograron en los tratamientos con compostaje, lo cual indica que pueden ser aprovechadas por los productores mediante el establecimiento de compostaje aledaño a sus cultivos protegidos, para elevar la concentración del CO₂ e incrementar tasa de asimilación fotosintética y el rendimiento de los cultivos, además de reducir el impacto medio ambiental por la liberación de CO₂ a la atmósfera durante la producción de compostas y vermicompostas, actividad a la alza en la agricultura actual.

LITERATURA CITADA

Atiyeh R. M., Arancon N., Edwards C. A., Metzger, J. D. 2000a. Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresour. Technol.* 75: 175-180. ISSN: 0960-8524. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00064-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00064-X)

Atiyeh R. M., Subler S., Edwards C. A., Bachman G., Metzger J. D., Shuster, W. 2000c. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedobiologia* 44: 579-590. ISBN: 0031-4056. [https://doi.org/10.1078/S0031-4056\(04\)70073-6](https://doi.org/10.1078/S0031-4056(04)70073-6)

Buck C., Langmaack, M. and Schrader, S. 1999. Nutrient content of earthworm casts influenced by different mulch types. *Eur. J. Soil Biol.* 35: 23-30. ISBN: 2277-0593. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(99\)00102-8](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(99)00102-8)

De Brito A. M., Gagne S., Antoun H. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 61(1): 194-199. ISBN: 0099-2240. <https://aem.asm.org/content/aem/61/1/194.full.pdf>

Dhulla S. K., Goyala S., Kapoora K. K., Mundra M. C. 2004. Microbial biomass carbon and microbial activities of soils receiving chemical fertilizers and organic amendments. *Archives of Agronomy and Soil Science* 50: 641-647. ISSN: 0365-0340. <https://doi.org/10.1080/08927010400011294>

Franch D. J., Calvet S. S., Soriano S. M. D., Pérez B. I., García M. F. J. 2015. Evaluación técnica y ambiental del vermicompostaje de estiércoles de ovino, caprino y conejo. Trabajo fin de grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/55661>

Utkhede R. S., Bactawar B. 2004. Compost effect on greenhouse cucumbers and suppression of plant pathogen *Fusarium oxysporum*. *Compost Science & Utilization* 12(4): 308-313. ISSN: 1065-657X. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2004.10702199>

Marinari S, Masciandaro G, Ceccanti B, Grego S 2000. Influence of organic and mineral fertilizers on soil biological and physical properties. *Bioresource Technology* 72(1): 9-17. ISSN: 0960-8524. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00094-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00094-2)

Matheus L. J. E. 2004. Evaluación agronómica del uso de compost de residuos de la industria azucarera (biofertilizante) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *Bioagro* 16(3): 219-224. ISSN: 1316-336. <https://www.redalyc.org/pdf/857/85716310.pdf>

Melgarejo P. M. R., Ballesteros G. M. I., Bendeck L. M. 1997. Evaluación de algunos parámetros fisicoquímicos y nutricionales en humus de lombriz y composts derivados de diferentes sustratos. *Revista Colombiana de Química*. 26(2): 11-19. ISBN: 2357-3791. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/16360/17287>

Mogollón J. P., Tremont O., Rodríguez N. 2014. Efecto del uso de un vermicompost sobre las propiedades biológicas y químicas de suelos degradados por sales. *Venezuelas* 9(1 y 2): 48-57. ISSN: 1315-0359. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_venes/article/view/947/876

Moreno R. A., Valdés P. M. T., Zarate L. T. 2005. Desarrollo de tomate en sustratos de vermicompost / arena bajo condiciones de invernadero. *Agricultura Técnica* 65(1): 26-34. ISSN: 0365-2807. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072005000100003>

Pasqualoto C. L., Lopes O. F., Okorokova-Facanha A. I., Rocha F. A. 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology* 130(4): 1951–1957. ISSN: 1532-2548. <https://dx.doi.org/10.1104%2Fpp.007088>

Pereira M. G., Zezzi-Arruda M. A. 2003. Vermicompost as a natural adsorbent material: characterization and potentialities for cadmium adsorption. *J. Braz. Chem. Soc.* 14(1): 39-47. ISSN: 0103-5053. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532003000100007>

Rodríguez F. P., Pérez D. A., Castro M. N., Martín P. J., Berroa N. G. 2001. Caracterización química y microbiológica del humus de lombriz obtenido de diferentes residuales orgánicos. *Centro Agrícola* 28(2): 48-52. ISSN: 0253-5785.

Romero-Yam L. A., Almaraz-Suárez J. J., Velasco-Velasco J., Galvis-Spinola A., Gavi-Reyes F. 2015. Microbial dynamics during composting of filter cake reactivated with chicken manure. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 21(1): 21-31. ISSN: 1027-152X. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.09.032>

Seufert, V.; Ramankutty, N. y Foley, J. A. 2012. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature* 485: 229-231. ISSN: 1476-4687. <http://serenoregis.org/wp-content/uploads/2012/06/nature11069.pdf>

Sofo A., Nuzzo V., Palese A.M., Xiloyannis C., Celano G., Zukowsky P., Dichio B. 2005. Net CO₂ storage in Mediterranean olive and peach orchards. *Sci. Hortic.* 107: 17-24. ISSN: 0304-4238. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.06.001>

Sotelo C. E., Iglesias M. C., Díaz I. 2004. Actividad Respiratoria en la producción de vermicompuesto a partir de residuos domiciliarios y diferentes absorbentes. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas* 2004. Universidad Nacional del Nordeste. <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-061.pdf>

Soto G., Muñoz C. 2002. Consideraciones teóricas y prácticas sobre el compost y su empleo en la agricultura orgánica. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 65:123-129. ISSN: 1016-0469. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2037E/A2037E.PDF>

Subler S., Edwards C. 1998. Comparing vermicomposts and composts. *BioCycle*. 39(7): 63-66. ISSN: 0276-5055.

Velasco-Velasco J., Figueroa-Sandoval B., Ferrera-Cerrato R., Trinidad-Santos A.,

Gallegos-Sánchez J. 2004. CO₂ y dinámica de poblaciones microbianas en composta de estiércol y paja con aireación. *Terra Latinoamericana* 22: 307-316. ISSN: 2395-8030.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57322307>

DIAGNÓSTICO DE *Brucella* spp. EN POBLACIÓN HUMANA Y GANADO CAPRINO Y BOVINO EN CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO.

Dulce Carolina Sánchez García¹, Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho², Idalia Enríquez Verdugo², Dr. Efrén Díaz Aparicio³, Carlos Víctor Hernández Ramírez⁴, Ignacio Osuna Ramírez⁵.

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias; FMVZ-UAS. Universidad Autónoma de Sinaloa; Culiacán, Sinaloa, México. ²Profesor de Tiempo Completo e investigadora-FMVZ-UAS; ³Investigador, INIFAP-SAGARPA, Cd. México. ⁴Servicios de Salud de Sinaloa-Vectores y Zoonosis; ⁵Profesor de Tiempo Completo e investigador-FCQB-UAS.

* biol.dulcecarolina@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Brucelosis es una enfermedad zoonótica infecciosa en fauna silvestre y ganado, que afecta accidentalmente al humano; se transmite principalmente por contacto directo con animales infectados o al ingerir productos lácteos no pasteurizados contaminados con bacterias del género *Brucella* spp. (*B. spp.*). A nivel global, se reportan anualmente 500,000 casos de brucelosis en seres humanos (Mohamed *et al.*, 2017).

Esta enfermedad zoonótica, representa un grave problema en las economías en desarrollo de todo el mundo y a pesar de que se considera erradicada en países del norte y centro de Europa, Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda, sigue siendo una enfermedad endémica y la incidencia está aumentando en Oriente Medio, la región Mediterránea, África subsahariana, China, India, Perú y México. Actualmente, el crecimiento en número de casos se está registrando en países de Asia Central y Sudoriental (OIE, 2019; Organización mundial de sanidad animal, 2019).

Brucella es un patógeno intracelular que afecta a humanos y animales, principalmente domésticos, provocando infecciones masivas en hatos, lo que a su vez conlleva pérdidas económicas importantes. Los factores de riesgo más frecuentes se identifican en personas que están en contacto con animales infectados y las personas que consumen productos lácteos sin pasteurizar. Su importancia en la salud pública radica en el número de casos que se presentan en los humanos causados principalmente por la especie *B. melitensis* seguida de *B. abortus* y *B. suis* (Celi *et al.*, 2006).

Se conocen doce especies de *Brucellas* con nombre y cuatro aisladas sin nombre, cada una de ellas tienen preferencia por uno o más hospedadores (mamíferos, incluidos los humanos y algunos anfibios): *B. melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *B. neotomae*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti* y la más reciente, *B. innopinata* (Hull y Schumaker, 2018; Cavalcanti *et al.*, 2015; Rivas, 2015). *B. melitensis* es la que infecta con mayor frecuencia y la más aislada de hemocultivos en personas con brucelosis (Castro *et al.*, 2005; Mohamed *et al.*, 2017).

Las especies de *Brucella* se clasifican comunmente en lisas o rugosas, en el grupo de *Brucellas* lisas se encuentran: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae*, mientras que en rugosas, *B. canis* y *B. ovis*. Las especies de *Brucella* lisas son más virulentas, debido al polisacárido O, antígeno inmunodominante de superficie con la capacidad de inducir una respuesta serológica en muchos de los animales en contacto con las especies lisas de *Brucella*; su estructura se asemeja a la de bacterias como *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella landau*, *Pseudomona maltophilia*, *Escherichia coli*, con diferencias en su membrana externa. Su aspecto se debe a la expresión de sus lipopolisacáridos en la superficie bacteriana, LPS-S en las lisas y LPS-R en las rugosas, sin embargo su crecimiento en medio de cultivo puede ocasionar mutaciones que afecten la expresión del lipopolisacárido (Castro et al., 2005).

En el período de 2000 al 2011, las autoridades de salud mexicanas registraron un aumento en la incidencia de brucelosis bovina de 1 a 15%, y en el ganado caprino el aumento pasó de 2 a 7%. Lo anterior se relacionó con el incremento de la brucelosis humana, el cual se elevó hasta un 15% en *B. abortus* (transmitida por bovinos) y 33% en *B. melitensis* (transmitidas por cabras), (Guzmán et al., 2016); posteriormente en 2014, de nuevo hubo un incremento de brucelosis en México, registrándose un total de 5,514 casos, de los cuales, 5,174 fueron por *B. abortus*, 340 por *B. melitensis* y ninguno de *B. suis*. Otros países que presentaron alta incidencia ese mismo año fueron: China con 2, 138 casos, Grecia con 1, 268 y Brasil 1, 142 casos; la mayoría de estos brotes fueron causados por *B. abortus* (Hull y Schumaker, 2018).

Recientemente en 2018 los Servicios de Salud de Sinaloa, registró una tasa de 153 casos de brucelosis por cada 100,000 habitantes, siendo el estado con mayor incidencia a nivel nacional (Servicios de Salud de Sinaloa, 2018).

Las cifras de la incidencia de brucelosis humana a nivel federal, son imprecisas, no sólo por la exclusión de casos erróneamente diagnosticados, que en la mayoría de las veces no se comprueban con pruebas serológicas de laboratorio o con el aislamiento de la bacteria para validar el diagnóstico clínico, por el contrario los casos bien diagnosticados sin seguimiento serológico y tratamiento adecuado no garantiza la eliminación de la bacteria de los pacientes. Por otro lado, se debe considerar, que en esta enfermedad es común que se presenten recaídas o evolucione a un estado de cronicidad (Guzmán et al., 2016).

DIAGNOSTICO

A nivel mundial, se han perfeccionado distintas técnicas serológicas con ventajas como la alta sensibilidad y especificidad, siendo esta la técnica más empleada para el diagnóstico de brucelosis, por considerarse de gran ayuda para los programas de control, algunas de estas pruebas son capaces de diferenciar entre animales vacunados de animales infectados, como los ensayos inmunoenzimáticos capaces de cumplir con esta

característica. La diferenciación de las seis especies del género *Brucella* se basa en la práctica habitual, en el lisodiagnóstico mediante los bacteriófagos Tb, Wb, Iz y R/C utilizados a la "Dilución Corriente de Prueba" de todas ellas, la lisis por bacteriófagos es la técnica más utilizada en la actualidad .

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La importancia de estudiar la enfermedad de Brucelosis radica en su elevada prevalencia. Existe una gran diversidad de animales que son portadores de la bacteria *Brucella*, lo cual dificulta la lucha contra esta infección, desde las medidas preventivas y erradicación, otra razón, es que, en el humano es extremadamente infecciosa y el cuadro clínico de Brucelosis, no permite una detección rápida, lo que puede influir también en la propagación y en la cronicidad de los casos que se presentan, haciendo más complicadas las opciones terapéuticas, y como consecuencia, genera una repercusión económica y social en la salud pública (Castro, et al., 2005).

En México la brucelosis afecta, tanto a humanos, como animales y esto ha generado brotes importantes en distintos años, colocándolo así como uno de los países con mayor incidencia en Latinoamérica. No obstante, a nivel nacional el estado de Sinaloa ha presentado el mayor número de casos en dos periodos; en el 2003 se registraron 2,945 casos en humanos, y el 19.45% de estos casos (n=573) se presentaron en el estado de Sinaloa (López Moreno, 2008), en 2018, el registro en México fue de 1,542 casos en humanos, y el 18.81% de casos (n=290) se presentaron en esta entidad, ocupando así el primer lugar en casos por brucelosis; sin embargo, se desconoce cuál es la especie más frecuente asociada con los casos de brucelosis humana.

Por ello tenemos la necesidad de realizar investigaciones que nos ayuden a conocer el tipo de especies de *Brucella* que afectan al humano y al ganado de la región y proponemos la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuáles son las especies de *Brucella* causantes de brotes en población humana y hatos ganaderos en el municipio de Culiacán, Sinaloa?

Hipótesis

El aumento en los casos brucelosis en seres humanos está relacionada con el incremento de brucelosis en ganado caprino y bovino del estado de Sinaloa, México.

Objetivos

Objetivo general

Identificar en seres humanos, ganado bovino y caprino las bacterias del género *Brucella spp.*, mediante procedimientos bacteriológicos para determinar especies y biotipo en Culiacán, Sinaloa, México.

Objetivos específicos

- En humanos con brucelosis se tomarán muestras serológicas para determinar especie y biotipo de *Brucella spp.*, y se realizarán entrevistas y test epidemiológicos.
- En hatos con brucelosis se realizará estudio bacteriológico en ganado caprino y bovino, para determinar especie y biotipo de *Brucella spp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Mediante el análisis de los resultados de serología positivos en humanos, se procederá a realizar entrevistas, cuestionarios y revisaran archivos de la campaña de brucelosis animal, con la finalidad de detectar los hatos con brucelosis. Posteriormente se tomarán muestras serológicas en rebaños de cabras y hatos de vacas mayores de un año de edad sin registro de vacunación y se realizarán diagnóstico serológico con pruebas de tamizaje para realizarles un estudio bacteriológico y determinar especie y biotipo de *Brucella spp.*

En humanos con brucelosis

- Se recolectarán sueros en la etapa febril de la enfermedad, para analizarse posteriormente mediante pruebas serológicas de acuerdo con la NOM 022-SS2-1994, y se procederá a realizar entrevistas y cuestionarios epidemiológicos.

En hatos con brucelosis.

- Muestreo serológico en rebaños de cabras y hatos de vacas mayores de un año de edad.
- Diagnóstico serológico mediante las pruebas de tarjeta al 3% como prueba tamiz e IDR con hapteno nativo como antígeno como prueba confirmatoria para discriminar anticuerpos post-vacunales de los ocasionados por la infección.
- Se realizará estudio bacteriológico para determinar especie y biotipo.

Colección de muestras.

- **Suero:** La sangre se colocará a la sombra hasta que se forme el coágulo y se separe el suero, se centrifugará y 1.5 ml del suero obtenido se colocarán en tubos endorph de 2 ml. Almacenándolos en congelación a -20°C

Aislamiento bacteriológico

Las muestras colectadas se llevarán al laboratorio donde serán inoculadas en medio TSA adicionado con suplemento de Farrel (medio selectivo para *Brucella*) incubándose durante 10 días a 37°C , en 5% de CO_2 y sin CO_2 .

Las colonias sospechosas serán resemebradas en medio selectivo para purificar la colonia e identificar la morfología. Para la identificación y diferenciación de las cepas vacunales de las de campo en los aislamientos logrados se utilizará medio TSA suplementado con

2.5 µg/mL de estreptomina para descartar el posible aislamiento de la cepa Rev 1 y para la cepa *RB51* se utilizará TSA suplementado con 50 µg/mL de rifampicina.

LITERATURA CITADA

Servicios de Salud de Sinaloa, 2018. (Boletín Epidemiológico de la Dirección de Prevención y Promoción de la Salud), semana epidemiológica No.-52, del 23 al 29 de Diciembre de 2018. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/425972/sem52.pdf>

Cavalcanti Soares, C. d. P. O., Almeida, T. J. A., Feitosa, d. S. A., Firmino, S. S. O Vilma Rocha, A. C. M. V., Da Silva, J. F. F., 2015. Prevalencia de la *Brucella spp* en humanos. Revista Latino-Americana de Enfermagem. 23;919-926. doi: 10.1590/0104-1169.0350.2632

Castro, H. A., González, S. R. y Prat, M. I., 2005. Brucelosis: una revisión práctica. Acta Bioquím Clín Latinoam.. 39;203-216. ISSN: 1851-6114.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-29572005000200008

Celi E, M., Rodríguez H, R., Viscaíno O, L., Ron R, J., Benitez, O, B., 2006. Identificación de los factores de riesgo y determinación de la seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp*. en trabajadores de explotaciones ganaderas del cantón Mejía – Ecuador. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana Suplemento N°3. doi:10.13140/2.1.2019.8089. ISSN 0325-2957

Guzmán, H. R. L., Contreras, R. A., Dávila, C. E. D. y Morales García, M. R., 2016. Brucelosis: zoonosis de importancia en México. Revista Chilena de Infectología. 33;656-662. doi.org/10.4067/S0716-10182016000600007

Hull, N. C. y Schumaker, B. A., 2018. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. Infection Ecology & Epidemiology. 8: 1-12. doi.org/10.1080/20008686.2018.1500846

López Moreno, H. S., 2008. Detección de brucelosis humana en pacientes de Sinaloa, México, en 2006. Salud Pública de México. 50;273-274. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342008000400004

Mohamed, J. *et al.*, 2017. Genome Sequences of *Brucella melitensis*, Isolated from Blood Samples of Brucellosis Patients in Malaysia. American Society for Microbiology. 5: 1-2. doi: 10.1128/genomeA.00689-17.

Organización mundial de sanidad animal, 2019. Brucelosis. [Online]

Available at: <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/brucelosis/>

Rivas Solano, O., 2015. Brucella abortus: patogénesis y regulación génica de la virulencia. Tecnología en Marcha. 28;61-73. doi:<https://doi.org/10.18845/tm.v28i2.2334>
Servicios de Salud de Sinaloa, 2018. (Boletín Epidemiológico de la Dirección de
Prevención y Promoción de la Salud, semana epidemiológica No.-48, del
25/Noviembre/2018 al 1/Diciembre/2018.

CONTRIBUCIÓN DE LA NMX-AA-120-SCFI-2016 A LA SUSTENTABILIDAD DE LAS PLAYAS DEL MUNICIPIO DE MAZATLÁN

CONTRIBUTION OF THE NMX-AA-120-SCFI-2016 TO THE SUSTAINABILITY OF THE BEACHES OF THE MUNICIPALITY OF MAZATLAN

Mitchell René Rodríguez Méndez¹, Luis Antonio Salcido Guevara¹, Joel Bojórquez Saucedo¹, Jaime Renan Ramírez Zavala¹, Omar Darío Cervantes Rosas², Anaid Ibeth López Urban³.

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar, Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos. ² Universidad de Colima. ³ Universidad Nacional Autónoma del Mexico, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. m.rodriquezm.facimar@uas.edu.mx

RESUMEN

La **NMX-AA-120-SCFI-2016** es un instrumento normativo que establece los requisitos y especificaciones de sustentabilidad de calidad de playas, desde su primera publicación en el 2006 la norma ha sido usada como referencia para propiciar condiciones de sustentabilidad en playas, tanto en playa recreativas como en playas prioritarias para la conservación; sin embargo, ha sido fuertemente cuestionada por la aparente falta de criterios que generen sustentabilidad real en el sitio. El objetivo de este estudio es establecer el impacto de la NMX en la sustentabilidad de las playas sujetas a procesos de certificación en el municipio de Mazatlán, esto a través de un análisis de la contribución de la NMX en mención a la gestión sustentable de las playas certificadas del municipio, con la intención de evaluar si los requisitos y especificaciones implícitos en la misma propician una gestión sustentable de la zona y si el Sistema de Gestión Ambiental implementado es efectivo. Actualmente el proyecto registra avances en el mapeo de los actores involucrados en la implementación del sistema (dependencias federales, estatales y municipales, así como también instituciones académicas y OSC's), se tienen diseñadas las encuestas para establecer resultados del SGA y se realizó un análisis de los criterios establecidos en la NMX, este último revela que la norma en mención no fomenta las actividades socioeconómicas del lugar. La evidencia pone de manifiesto que en su forma actual la NMX no propicia condiciones de sustentabilidad en el caso de estudio.

Palabras claves: certificación, bienes de uso común, ordenamiento, indicadores, sistema de gestión.

ABSTRACT

The NMX - AA - 120 - SCFI - 2016 is a normative instrument that establishes the requirements and specifications of sustainability of quality of beaches, since its first publication in 2006 the norm has been used as a reference to promote sustainability conditions on beaches, both in recreational beaches as in priority beaches for conservation; however, it has been strongly questioned by the apparent lack of criteria that generate real sustainability on the site. The objective of this study is to establish the impact of the NMX-AA-120-SCFI-2016 on the sustainability of the beaches subject to certification processes in the municipality of Mazatlán, this through an analysis of the contribution of the NMX in mention of the sustainable management of the certified beaches of the municipality, with the intention of evaluating if the requirements and specifications implicit in it promote a

sustainable management of the area and if the implemented Environmental Management System is effective. Currently the project registers advances in the mapping of the actors involved in the implementation of the system (federal, state and municipal agencies, as well as academic institutions and CSOs), the surveys have been designed to establish GHS results and an analysis of the criteria established in the NMX, the latter reveals that the aforementioned norm does not promote the socioeconomic activities of the place. The evidence shows that in its current form the NMX - AA - 120 - SCFI - 2016 does not favor sustainability conditions in the case study.

Keywords: certification, common use goods, ordering, indicators, management system

INTRODUCCIÓN

Mundialmente se reconoce que una zona costera con playa contribuye de manera importante al desarrollo del potencial turístico del sitio y por ende a la economía local. La gestión de la zona costera y de playas es hoy por hoy, entendida como un proceso que trata sistemas socioecológicos (SSEE) costeros en constante cambio, los cuales se presentan en un contexto de altos valores en disputa, de alta incertidumbre y de decisiones urgentes (James, 2000; McFadden, 2007; Bremer, 2003). En los últimos años, el cuerpo de expertos en gestión de playas ha intentado capturar la complejidad de estos sistemas, produciendo procedimientos y herramientas más adecuadas a este nuevo marco, creando distintos índices integrales para la evaluación de las playas, sin embargo, los indicadores disponibles y las acciones de gestión de las playas no abordan adecuadamente la complejidad de las interacciones socio-ecológicas del sistema playa. De forma general, las aproximaciones académicas son poco robustas, pues no examinan con rigor las asunciones e incertidumbres inherentes a su análisis. Actualmente el avance de las certificaciones de calidad turística en el mundo ha incrementado el interés por conocer las características ambientales de la playa. Sin embargo, estas certificaciones solo recogen como indicadores los necesarios para catalogar la calidad de aguas de baño y se olvidan de sistematizar otros de importancia capital, como la opinión de los usuarios y otros tipos de interés, indicadores físicos y biológicos, etcétera. Lo anterior hace que las normas existentes sean de tipo sanitario, no específicas para playas turísticas y concentradas en el agua marina; además, dejan de lado la zona emergida de la playa

En el mundo existen 25 esquemas de certificación de playas que se encuentran en 18 diferentes países. Las certificaciones de playas las clasifican en dos tipos: playas urbanas/turísticas o playas rurales (Cagilaba y Rennie, 2005), donde una playa urbana/turística certificable es aquella que cumple los requisitos especificados conforme de lo que se conoce como “playa recreativa urbana óptima” es decir: no está contaminada (sin residuos sólidos, ni materia fecal, ni residuos bacteriológicos, ni película visible de aceites, grasas o espuma), no hay malos olores, están identificadas las fuentes puntuales de contaminación, existe un servicio de recolecta de basura en la playa.

El 06 de febrero del 2006 se publica la declaratoria de vigencia de la única política pública que trata de abordar este tema, la NMX – AA – 120 – SCFI – 2006, posteriormente el día 07 de diciembre del 2016 se actualiza dicha norma y pasa a ser la NMX – AA – 120 – SCFI – 2016, misma que cancela la versión 2006. La NMX-AA-120-SCFI-2016 misma que establece los requisitos y especificaciones de sustentabilidad de calidad de playas, esta norma incluye medidas de ambientales para la protección del ambiente en las playas turísticas del país, en materia de calidad de agua, residuos sólidos, infraestructura costera, biodiversidad, seguridad y servicios, educación ambiental y contaminación por ruidos. La aplicación de los requisitos que establece esta norma comprende las dos modalidades de playa: 1) Uso recreativo y 2) prioritarias para la conservación.

La certificación de playas, que indica que se manejan con base en esta norma, constituye un instrumento útil que genera confianza en la sociedad. Más que todo, es un reconocimiento para las autoridades municipales, estatales o federales que, en coordinación con organizaciones no gubernamentales, académicas o particulares trabajan para cumplir con los requisitos estipulados. La implementación de la norma trae consigo muchos beneficios para los destinos turísticos de sol y playa, resaltando la importancia del instrumento para lograr el desarrollo sustentable de estos destinos.

Actualmente en el país se cuenta con 36 playas certificadas bajo la NMX-AA-120-SCFI-2016 en sus diferentes niveles, I, II y III. Los estados de Nayarit (1), Quintana Roo (2) y Jalisco (3) lideran el ranking de Estados con mayor número de playas certificadas, playa Chileno (Los Cabos, B.C.S) fue la primera playa recreativa certificada del país (2008), Sinaloa es el estado con mayor longitud de playas certificadas en el país (8,576 m), playa El Verde Camacho (Mazatlán, Sin.) es la playa certificada prioritaria para la conservación con mayor longitud (6,000 m) y playa Miramar (Cd. Madero, Tamaulipas) es la playa recreativa certificada con mayor longitud (1,551 m). Las 36 playas certificadas cubren un total de 26.276 km de 11, 122 km del litoral costero nacional, es decir, un 0.23 % del total de litoral costero.

Entonces, ¿el esquema de certificación ambiental implementado en las playas del municipio de Mazatlán propicia la sustentabilidad de los casos de estudio?

Sea cual sea, todas las playas constituyen ecosistemas costeros que abarcan una amplia gama de tipos de hábitat y una enorme riqueza de especies. Albergan nutrientes y, en su ciclo, filtran contaminantes provenientes de los sistemas continentales de agua dulce. Además, ayudan a proteger la línea costera de la erosión y las tormentas. Todas estas razones hacen que el uso, manejo y conservación de los ecosistemas costeros jueguen un papel primordial en la estrategia de desarrollo de un país.

Como marco teórico se tiene que, las playas son definidas como unidades geomorfológicas presentes en determinados tipos de costas, que responden al suministro de sedimento, oleaje, corrientes y vientos en una escala de tiempo indefinida y que varía de un lugar a otro. Esta interacción del aire, el agua y la arena, constituye un ambiente muy dinámico y ecológicamente sensible a cambios tanto de origen natural como humano. Así, estos sistemas socio-ecológicos cumplen un doble rol, ya que se constituyen como sistemas naturales proveedores de servicios ambientales; mientras que también actúan como satisfactor de necesidades humanas. Regularmente, los recursos de uso común como las playas, por las características que reúne, están disponibles para más de una persona, además son bienes que sufren problemas relacionados con el acceso ilimitado y a su vez repercute en la degradación de los recursos y en malos resultados económicos para los usuarios. Ante esto es fundamental tener claro la relación existente entre la zona costera y el sistema costero, el visualizar la playa como un sistema socio-ecológico explica perfectamente esta relación, ya que dentro de un sistema socio-ecológico existe un subsistema biofísico (interacción entre el ambiente terrestre y marino, playa) que vendría siendo la zona costera, un subsistema socio-económico (interacción entre los ambientes marinos y terrestres con las actividades humanas) y el subsistema institucional (subsistema jurídico y administrativo que rige la zona), la interacción entre estos tres subsistemas componen el sistema costero. La sustentabilidad en playa sería la capacidad que tiene una sociedad para hacer un uso consciente y responsable de su recurso playa, sin agotarlo o exceder su capacidad de renovación, y sin comprometer el acceso a estos por parte de las generaciones futuras. La sustentabilidad es

en realidad “un proceso” que tiene por objetivo encontrar el equilibrio entre el medio ambiente y el uso de los recursos naturales, mediante la construcción de capacidades de gestión (y autogestión) encaminadas a lograr una prosperidad económica sostenida en el tiempo protegiendo al mismo tiempo los sistemas naturales del planeta y proveyendo una alta calidad de vida para las personas. Como objeto de estudio científico, la sustentabilidad, se aborda desde un enfoque transdisciplinario que explica la coexistencia del ser humano con su ambiente (la relación sociedad/naturaleza), generando un equilibrio entre los aspectos ambientales, sociales, políticos y económicos con el objetivo conservar los sistemas de soporte de vida y de satisfacer las necesidades de las generaciones presentes y futuras, dicha sustentabilidad resultaría de un sistema de gestión ambiental que contemple las interacciones ambientales, sociales y económicas, entendidas como un sistema socio-ecológico, mismas que tienden a incidir en la satisfacción de las necesidades humanas conservando los sistemas de soporte de vida del planeta.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los problemas que más preocupan a nivel mundial es la poca o nula comprensión de la relación existente entre la naturaleza y la sociedad. El municipio de Mazatlán en los últimos años ha incrementado la construcción de infraestructura turística, este proceso ha generado una interacción negativa en la relación sociedad – naturaleza a nivel local. Este se hace evidente en la notable ausencia de estrategias de desarrollo sustentable, ya que se han dejado de lado activos ambientales, como las playas, a pesar de que estas son el principal atractivo turístico para los visitantes del puerto y la zona donde se genera la mayor derrama económica para la población local. En la actualidad a nivel nacional una de las políticas públicas implementada para la “sustentabilidad de las playas” es la norma mexicana NMX-AA-120-SCFI-2016. Esta estrategia se ha implementado a nivel local en dos playas, una de uso recreativo (playa Gaviotas, nivel 1 de certificación) y otra como prioritaria para la conservación (Playa El Verde Camacho, nivel 1 de certificación), sin embargo, esta certificación como producto turístico ha dejado de lado el tema ambiental y los aspectos socioeconómicos de la zona, dándole un valor muy alto a la calidad del agua. Lo anterior nos muestra que este tipo de certificaciones ambientales no necesariamente contribuye a la sustentabilidad de los procesos de gestión, por lo que es necesario revisar sus indicadores contrastándolos con indicadores de sustentabilidad a nivel internacional.

HIPOTESIS

El esquema de certificación de playas implementado en el municipio de Mazatlán no propicia a la sustentabilidad de los casos de estudio.

OBJETIVO GENERAL

- ❖ Establecer el impacto de la NMX-AA-120-SCFI-2016 en la sustentabilidad de las playas sujetas a procesos de certificación en el municipio de Mazatlán.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Análisis de los criterios, requerimientos y procesos de la NMX – AA – 120 – SCFI – 2016.
- ✓ Describir el sistema socio-ecológico (SSE) del caso de estudio.
- ✓ Análisis de la percepción ambiental de los usuarios de playa Gaviotas.

- ✓ Diseñar un sistema de indicadores (ambientales, sociales y económicos) de sustentabilidad.
- ✓ Análisis del Sistema de Gestión Ambiental (SGA) en el caso de estudio.
- ✓ Evaluación *in situ* de playa Gaviotas según la NMX – AA – 120 – SCFI – 2016.
- ✓ Comparar los resultados de los indicadores con los resultados de evaluación de la NMX y del SGA.

MATERIAL Y MÉTODOS

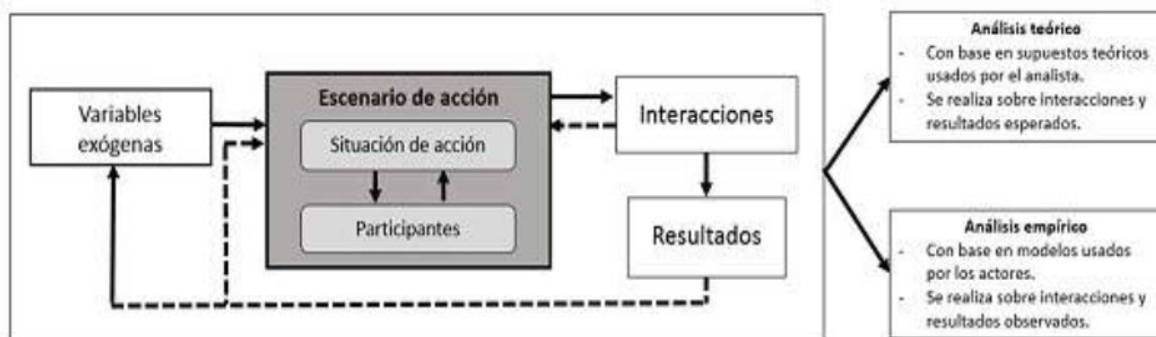
El presente estudio es una investigación con un enfoque mixto (cuantitativo y cualitativo), se revisara y sistematizaran fuentes primarias y secundarias.

Las fuentes primarias consisten en:

- Páginas de internet de las redes y organizaciones.
- Documentos publicados, documentos divulgados por las entidades relacionadas con la gestión ambiental en general y de playas en particular.
- La normatividad, relacionada con el tema de participación en la gestión ambiental, vigente y los cambios que ha sufrido en los últimos años.
- Los diferentes informes de auditoría y controles de advertencia elaborados por las autoridades pertinentes.

Las fuentes secundarias consisten en: Principalmente artículos académicos, sobre la relación entre la sustentabilidad y las certificaciones ambientales

El análisis y creación del sistema de indicadores de sustentabilidad a proponer se hará con base a un modelo conocido como Análisis y Desarrollo Institucional (IAD). El modelo establece un marco organizado que permite estudiar la interacción de una serie de elementos de gran relevancia en la estructuración de las acciones de política pública.



Fuente: elaborado a partir de Ostrom (2005a, p. 33).

Fig. 1. Esquema de modelo de Análisis y Desarrollo Institucional.

La selección del caso de estudio:

- Considera playas de distintas características (urbana y rural) del municipio de Mazatlán, Sinaloa.
- Considera playas certificadas bajo la Norma NMX – AA – 120 – SCFI – 2016 en ambas modalidades de certificación.
- Permite el análisis en una zona donde el ecosistema tiene una continuidad estructural y funcional lo que hace que los resultados de la gestión sean representativos.

Los criterios de selección de las playas que constituyen el caso de estudio considera dos playas, mismas que serán exploradas en varios aspectos determinados por los indicadores de sustentabilidad seleccionados y por los requisitos que marca la norma mexicana.

ANÁLISIS DE LOS CRITERIOS Y REQUERIMIENTOS DE LA NMX – AA – 120 – SCFI – 2016.

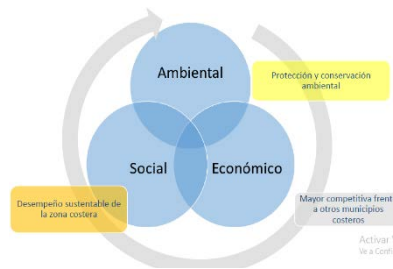


Fig. 2 Sistema de indicadores según la NMX

Criterios	Recreativas	Conservación
Ambientales	35	13
Económicos	0	0
Sociales	9	0
Mixtos	16	50
Total	60	63

Tabla 1. Análisis de criterios de sustentabilidad en la NMX

Se diseñó una encuesta dividida en tres secciones (noción de la sustentabilidad, idoneidad de los criterios de la NMX y los procesos de evaluación y seguimiento de la NMX, dichas encuestas fueran implementadas a una gran parte de los promoventes de la NMX (personas físicas,

instituciones gubernamentales, etc.). Los resultados de dichas encuestas se están analizando en este momento, razón por la cual no se presentan resultados hasta el momento.

DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA SOCIO-ECOLÓGICO DE PLAYA GAVIOTAS

Descripción del aspecto socioeconómico.

El objetivo principal no es sólo el conocimiento de los usos y actividades económicas que aquí convergen. Es necesario saber también cuáles son los fundamentos o principios objetivos que explican la aparición, el crecimiento y la crisis de cada una de ellas.

Una cuestión importante es el significado de la explotación de los recursos en relación al conjunto del producto bruto total de la actividad económica. Dividir el valor (en moneda, en empleos, etc) de las actividades emplazadas o ligadas a la costa (pesca, acuicultura, turismo, etc.) entre el monto global de la actividad económica

Análisis elemental del subsistema social y económico

Primero, realizar un inventario de las actividades humanas existentes. Es difícil determinar esas actividades porque hay algunas que no necesariamente concurren al mercado, quedan ajenas al libre comercio. Por otro lado, hay actividades que exhiben un impacto diferente, dependiendo de su etapa, por ejemplo, la construcción o ubicación de un puerto se relaciona con el uso del suelo, mientras que el tráfico de embarcaciones que en ese puerto tiene lugar expresa la actividad económica de mayor o menor intensidad.

Por esas razones se propone la siguiente clasificación:

- a) ***usos que soportan las actividades costeras*** y
- b) ***actividades económicas.***

Actividades asociadas al ocio y al turismo

La dependencia de este conjunto de actividades de los recursos naturales es más que evidente. El turista desea adquirir un ambiente lo más natural posible, limpio, atractivo desde el punto de vista escénico, aspira también a consumir productos naturales propios del lugar, etc. De esta manera se relaciona con los recursos biológicos, hidrológicos, paisajísticos y atmosféricos. Del uso sostenible de estos recursos depende de la continuidad y prosperidad de las actividades turísticas.

En determinadas zonas costeras con bajos niveles de desarrollo, donde los recursos naturales todavía están relativamente bien conservados, es necesario calibrar de forma precisa las distintas alternativas turísticas. Se han detectado en las preferencias del turista internacional el deseo de encontrar un cuadro ambiental satisfactorio (Cuadro 3.10), mejor que el de su lugar de origen. Así, parece obligado cuidar aspectos ligados al urbanismo, calidad del aire y de las aguas, etc

Recursos culturales

Se deben complementar los objetivos de la gestión integrada de los recursos naturales con la protección y conservación del patrimonio cultural.

Existen variadas posibilidades culturales a través de las que una sociedad puede expresar su relación especial con los recursos naturales de la costa: paisaje antrópico, gastronomía, contiendas deportivas, ritos religiosos, etc.

Playa Gaviotas

Playa certificada bajo la norma NMX-120-AA-SCFI-2016 (versión actualizada) para uso recreativo desde el 2013, con una extensión de 500 m, teniendo como límite sur el Hotel Emporio y como límite norte el Hotel Playa Mazatlán.

ANÁLISIS DE LA PERCEPCIÓN AMBIENTAL DE LOS USUARIOS DE PLAYA GAVIOTAS

Se diseñó una encuesta para analizar la percepción ambiental de los usuarios en playa Gaviotas, dicha encuesta fue generada a través de una aplicación (app) llamada Kobotoolbox, la cual manda todos los resultados de la encuesta a una base de datos en tiempo real y a su vez genera estadística descriptiva de los datos recolectados.

Las encuestas fueron aplicadas en playa Gaviotas en tres ocasiones, dos de ellas en temporada de alta afluencia (agosto y diciembre de 2018) y la otra en temporada de baja afluencia (septiembre 2018), lo anterior con la finalidad de visualizar las afluencias de usuarios por temporalidades y para analizar la percepción de cada tipo de usuario presente en la playa.

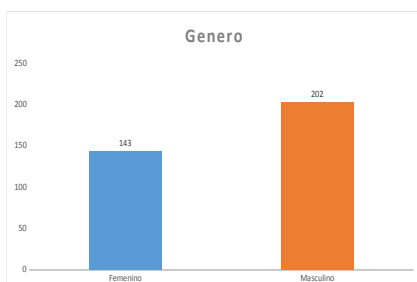


Fig. 3 Genero de los usuarios de la playa.

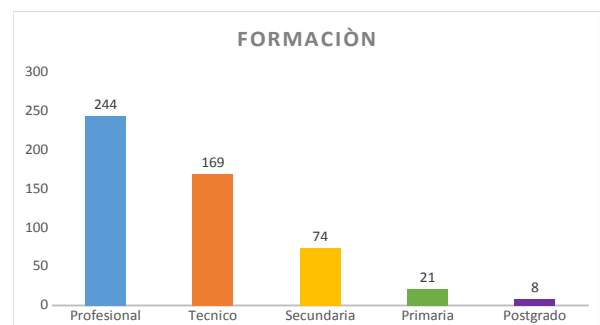


Fig. 7 Formación de los usuarios de la playa.

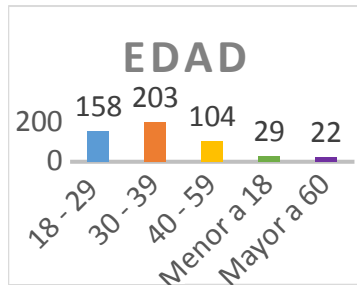


Fig. 4 Edad de los usuarios de la playa.

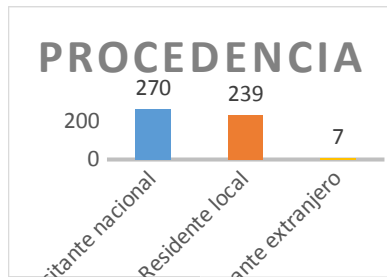


Fig. 5 Procedencia de los usuarios de la playa.

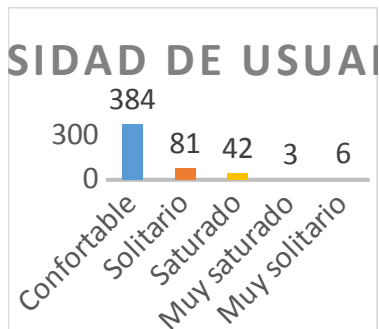


Fig. 6 Percepción de la densidad de usuarios en playa según los usuarios de la playa.

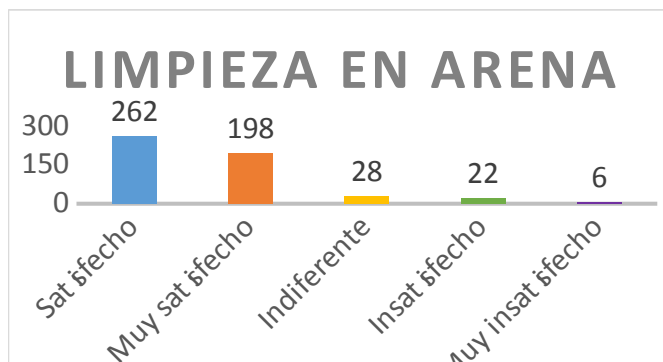


Fig. 8 Percepción de la limpieza en arena en playa según los usuarios de la playa.

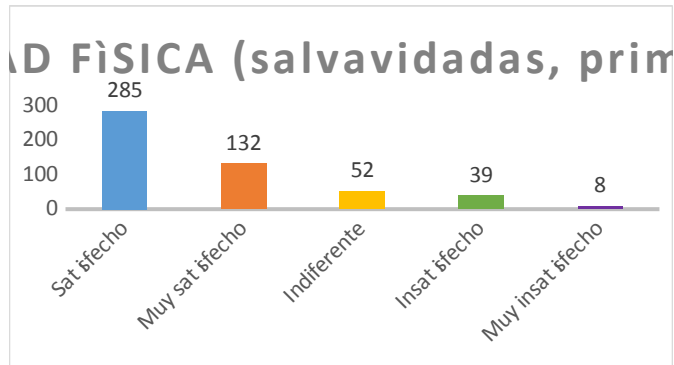


Fig. 9 Percepción de la seguridad física en playa según los usuarios de la playa.

ANÁLISIS DEL SISTEMA DE GESTIÓN AMBIENTAL (SGA) EN LOS CASOS DE ESTUDIO.

Costo aproximado anual de certificación de playas	
Playa Gaviotas (530m)	
Concepto	Costo
Auditoria	\$46,400.00
Historial de calidad de agua (tres meses de muestreo, una muestra semanal) 48 muestras (\$500 x cada muestra)	\$24,000.00
Muestreos de calidad de agua (3 al año)	\$3,948.00
Estructura de señalética y estación de contenedores	\$35,000.00
Rotulación de señalética	\$15,000.00
Gasolina para barredora manual (15 litros por semana) 52 semanas.	\$13,650.00
Recurso humano (operador en playa)	\$177,600.00
Mantenimiento barredora manual	\$16,000.00
TOTAL	\$331,598.00
Nota: Las cantidades fueron facilitadas por parte del Comité de Playas Limpias del Municipio de Mazatlán.	

Tabla 2. Costo de la certificación inicial para playa Gaviotas (CPLMM, 2019).

EVALUACIÓN *IN SITU* DE PLAYA GAVIOTAS SEGÚN LA NMX – AA – 120 – SCFI – 2016.

- Enríquez, E. 2003. Criterios para evaluar la aptitud recreativa de las playas en México. Una propuesta metodológica. *Gaceta ecológica*, Instituto Nacional de Ecología – México, Julio-septiembre 68: 55 – 68.
- Espejel I, Espinoza-Tenorio A. 2006. Modelo de clasificación integral de playas: indicadores ambientales (biofísicos y socioeconómicos) como bases para un marco regulatorio y de aprovechamiento sustentable de las playas del Golfo de California Y Pacífico Norte (Ensenada, Guaymas, La Paz, Loreto, Los Cabos, Mazatlán y Pto. San Carlos). Reporte técnico final FON-CNA-2004-01-009. Proyecto sectorial CONACYT- CNA.
- Espejel I., Espinoza-Tenorio, A., Cervantes, O., Popoca, I., Mejía, A. y Delhumeau, S. 2007. Proposal for an integrated risk index for the planning of recreational beaches: use at seven Mexican arid sites. *Journal of coastal research, Special Issue 50*.
- Hurtado, Y.P., Botero, C., y Herrera, E. 2009. Selección y propuesta de parámetros para la determinación de la calidad ambiental en playas turísticas del Caribe Colombiano. *Revista Ciencia en su PC, Santiago de Cuba, Cuba. Vol. 4*.
- Popoca Arellano, E.I. y Espejel, I., 2009. Propuesta de una metodología para evaluar playas recreativas con destino turístico. *Revista de Medio Ambiente, Turismo y sustentabilidad*.
- Rubio, D. 2005. Gestión integral de playas. Agencia Valenciana de Turismo, Editorial Síntesis, Madrid. 203 pp

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL AJO (*Allium sativum*) FRESCO SOBRE *Salmonella* Enteritidis Y LA PRODUCTIVIDAD DE GALLINAS

Miguel Antonio Cárdenas Contreras^{1,2}, Jesús José Portillo Loera¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Carlos Alfonso López Orona²

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.
cardenasmca5@gmail.com

²Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa

RESUMEN

Salmonella es responsable del 96% de los casos de enfermedades transmitidas por alimentos de origen avícola; por ello, para reducir el riesgo de contraer salmonelosis, la industria avícola implementa estrategias como la inmunización, medidas de bioseguridad y la utilización de antibióticos promotores del crecimiento (APC); sin embargo, estas estrategias no han sido suficientes para controlar el problema; además, el uso de APC ha generado resistencia bacteriana, considerada una amenaza para la estabilidad de los sistemas de salud. Por esta razón, es necesario buscar alternativas a la utilización de APC y la inmunización; tal como el empleo de fito bióticos. Los aceites esenciales de ajo, poseen actividad antibacteriana por lo cual pueden ser una alternativa viable, ya que han mostrado que favorecen mejora en los parámetros productivos en pollos de engorda. El objetivo de este estudio, es determinar el efecto de la inclusión de ajo (*Allium sativum*) fresco en el alimento para gallinas productoras de huevo sobre la actividad antibacteriana contra *Salmonella* Enteritidis, su presencia en el contenido del huevo, las heces y en la productividad. Materiales y métodos: Los aceites esenciales del ajo se caracterizarán por cromatografía de líquidos; se utilizará un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (testigo negativo, testigo positivo y dos niveles de ajo) con cinco réplicas, donde la unidad experimental será cada jaula en batería con dos gallinas. En las heces y huevo de las gallinas se determinará la presencia de *Salmonella* Enteritidis, y se medirá la postura, peso y calidad del huevo.

Palabras clave: Alicina, nutracéutico, inhibición, *Salmonella*, conversión alimenticia.

ABSTRACT

Salmonella is responsible for 96% of cases of foodborne diseases of poultry origin, therefore, to reduce the risk of contracting salmonellosis, the poultry industry implements strategies such as immunization, biosecurity measures and the use of antibiotic growth promoters (AGP); however, these strategies have not been enough to control the problem; In addition, the use of AGP has generated bacterial resistance, considered a threat to the stability of health systems. For this reason, it is necessary to look for alternatives to the use of APC and immunization; such as the use of phytobiotics. The essential oils of garlic, have antibacterial activity for which they can be a viable alternative, since they have shown that they favor improvement in the productive parameters in broiler chickens. The objective of this study is to determine the effect of the inclusion of fresh garlic (*Allium sativum*) in the feed for egg-producing hens on the antibacterial activity against *Salmonella* Enteritidis, its presence in egg content, feces and in productivity.

Materials and methods: The essential oils of garlic will be characterized by liquid chromatography; a completely randomized design with four treatments (negative control, positive control and two garlic levels) will be used with five replications, where the experimental unit will be each cage in battery with two hens. In the feces and eggs of the hens, the presence of *Salmonella* Enteritidis will be determined, and the posture, weight and quality of the egg will be measured.

Key words: Allicin, nutraceutical, inhibition, *Salmonella*, feed conversion.

INTRODUCCIÓN

Los productos avícolas constituyen la segunda fuente de proteína de origen animal de mayor consumo (USDA, 2018). A nivel mundial, en 2018, la carne de pollo y huevo fresco tuvieron consumo *per cápita* de 33 y 12.6 kg, respectivamente; pero se estima que la carne de pollo será la proteína de origen animal más consumida (USDA, 2018). México se ubicó en primer lugar en consumo de huevo con 22.96 kg en promedio, y sexto lugar en consumo *per cápita* de carne de pollo, estimado en 28.42 kg (UNA, 2017; UNA, 2016). Sin embargo, uno de los inconvenientes del consumo de productos avícolas es la transmisión de enfermedades por alimentos (ETA's). De las bacterias que causan con mayor frecuencia ETA's sobresalen *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp y *Escherichia coli* enterohemorrágica; *Salmonella*, es responsable del 96% de los casos de ETA's con origen en productos avícolas (OMS, 2015; Mollenhorst *et al.*, 2005). Según Majowicz *et al.* (2010) *Salmonella* causa 93.8 millones de casos de gastroenteritis a nivel mundial y 155,000 muertes. Para disminuir el riesgo de contraer Salmonelosis por el consumo de huevo, la industria avícola ha establecido estrategias como la bioseguridad, inmunización y la utilización de APC, esto reduce la incidencia de infecciones en las gallinas y subsecuentemente la frecuencia de salmonelosis en humanos (Dewaele, 2012; Gamazo y Irache, 2007). Sin embargo, esto no ha sido suficiente para eliminar por completo al microorganismo de los tejidos, permitiendo su diseminación (Gast *et al.*, 2015). Los antibióticos promotores del crecimiento (APC) mejoran la salud intestinal, al reducir la población de bacterias y la secreción de toxinas bacterianas, reduce la inflamación de la mucosa intestinal, mejora la absorción de nutrientes y conversión alimenticia (Díaz *et al.*, 2015b). La exposición de bacterias a los antibióticos puede desencadenar mecanismos de adaptación para evitar la acción del fármaco, generando resistencia bacteriana para favorecer su crecimiento y diseminación (Rivera *et al.*, 2012); las infecciones causadas por organismos resistentes a antibióticos (ORA's), son un problema de salud pública que crece en tamaño, puede diseminarse en pocas horas y podría afectar la estabilidad de los sistemas de salud del mundo; en Estados Unidos, se registran 2 millones de infecciones causadas por ORA's y 23,000 muertes al año, generando 35 millones de dólares adicionales en gastos de salud (Rocha *et al.*, 2015).

Villagómez *et al.*, (2017) en Ecuador, aislaron *S. Infantis*, Liverpool, Amsterdam y Uganda en alimento, heces y canales de pollo, observando resistencia al menos a un antibiótico en todas las cepas y *S. Infantis* mostró resistencia a 11 antibióticos; Cárdenas *et al.*, (2018) en Sinaloa, México, detectaron la presencia de *Salmonella* spp en el 25% de los huevos para consumo humano analizados y 70% de muestras de heces positivas, detectándose resistencia a ampicilina, cloranfenicol y sulfametoxazol/trimetoprim. Por esto, es necesario buscar alternativas antimicrobianas que no afecten la salud, menos tóxicas y que no dejen residuos (Díaz *et al.*, 2015a). Los nutraceuticos, son alimentos con capacidad preventiva y/o terapéutica,

y de estos, los aceites esenciales (AE) de ajo (*Allium sativum*) clasificados como fito biótico (sustancias extraídas de los vegetales), poseen compuestos sulfurados (CS) con actividad antibacteriana, antioxidante, antiinflamatoria, inmunoestimulante y además, tienen acción prebiótica debido a la presencia de oligofructosa en sus AE que no puede ser aprovechado como fuente de energía por bacterias como *Salmonella* spp, y si por microorganismos benéficos presentes en el intestino que favorecen la salud del huésped y mejoran la eficiencia alimenticia (Vargas *et al.*, 2014; Amagase *et al.*, 2001), Massad *et al.*, (2018) investigaron el efecto del ajo en polvo como promotor del crecimiento en pollo de engorda, concluyendo que mejora la ganancia de peso, el rendimiento productivo y económico. Damaziak *et al.*, (2017) determinaron el efecto de la inclusión de extracto de ajo (0.0032%) en el alimento de gallinas sobre la productividad y la calidad del huevo (aroma y Unidades Haugh), observando que mejoró el aroma del huevo, las unidades Haugh y el peso de la yema.

La actividad bactericida de los AE de ajo se atribuye principalmente a la alicina (diallyl-tiosulfinato), que representa aproximadamente el 70% del total de CS presentes en el extracto de ajo fresco (Han *et al.*, 1995). Los AE son compuestos hidrofóbicos, esto facilita la interacción con lípidos de la membrana celular bacteriana, modifican su estructura y la hace más permeable (Silva y Fernández, 2010). La actividad antibacteriana de los AE de ajo, resulta de la interacción de sus CS con el grupo sulfhidrilo de enzimas bacterianas como tripsina y proteasa inactivándolas (Bortolotto *et al.*, 2018; Wilson y Demmig, 2007), inhiben la síntesis de ADN, ARN y toxinas bacterianas, esto, reduce la virulencia del patógeno (Díaz *et al.*, 2015a). Cárdenas *et al.*, (2018) determinaron la actividad inhibitoria *in vitro* del extracto de ajo fresco sobre *Salmonella* spp asilada de albúmina y yema de huevo, concluyendo que el extracto de ajo (*Allium sativum*) inhibe el crecimiento de *Salmonella* spp multiresistente y el diámetro de inhibición aumenta al incrementar la concentración del extracto. Petropoulos *et al.* (2018) midieron la actividad inhibitoria *in vitro* del extracto etanólico de ajo contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* Typhimurium, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Micrococcus flavus*, observando mayor inhibición que en los tratamientos con estreptomycin y ampicilina. Tosun *et al.* (2017) concluyen en su investigación que tratar con AE de ajo carne de salmón inoculada con *S. Enteritidis* y *L. monocytogenes* reduce el número de UFC.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Qué efecto tiene la inclusión de ajo (*Allium sativum*) fresco en el alimento para gallinas sobre la actividad antibacteriana contra *Salmonella* Enteritidis, su presencia en el contenido del huevo y heces y en la productividad?

HIPÓTESIS

La inclusión de ajo fresco en el alimento para gallinas inhibe el crecimiento *Salmonella* Enteritidis, reduce su presencia en el contenido del huevo y las heces y mejora la productividad.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto de la inclusión de ajo (*Allium sativum*) fresco en el alimento para gallinas productoras de huevo sobre la actividad antibacteriana contra *Salmonella* Enteritidis, su presencia en el contenido del huevo y heces, y en la productividad.

Objetivos específicos

Determinar la composición de aceites esenciales del extracto de ajo fresco mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC).

Determinar el efecto del consumo de ajo (*Allium sativum*) fresco en gallinas productoras de huevo sobre la productividad.

Determinar el efecto antibacteriano *in vivo* del ajo (*Allium sativum*) fresco sobre *Salmonella* Enteritidis en el contenido del huevo y heces.

Determinar la dosis mínima inhibitoria *in vivo* del ajo (*Allium sativum*) fresco sobre *Salmonella* Enteritidis en el contenido del huevo y heces.

Determinar la dosis mínima bactericida *in vivo* del ajo (*Allium sativum*) fresco sobre *Salmonella* Enteritidis en el contenido del huevo y heces.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del Lugar de Trabajo

El experimento se realizará en el Laboratorio de Bacteriología y Micología y la Unidad Avícola Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, México (24° 46' 13" LN y 107° 21' 14" LO); clima considerado semiseco, muy cálido, con lluvias en verano, temperatura promedio de 25.9°C, humedad relativa promedio de 68% y la precipitación anual es de 688.5 mm en promedio (CIAPAN, 2002; García, 2004). Se utilizarán 40 gallinas de la raza Rhode Island de 40 semanas de edad, alojadas una gallinas por jaula de tipo batería, con diez jaulas por tratamiento y cuatro tratamientos; el protocolo de investigación será evaluado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales (CICUA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad Autónoma de Sinaloa.

Caracterización de los Extractos de Ajo (*Allium sativum*) mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC)

Los bulbos de ajo serán adquiridos en el mercado local, se lavarán y desinfectarán con agua destilada estéril e hipoclorito de sodio respectivamente, y se enjuagarán con agua destilada estéril. El extracto de ajo será caracterizados mediante cromatografía de líquidos de alto rendimiento (Hannan *et al.* 2012).

Evaluación de parámetros productivos en gallinas de postura

El consumo de agua y alimento, la producción, medida en número y kilogramos de huevo producidos por tratamientos y clasificación por tamaño en gr, será medido diario y cada semana se calculará el índice de conversión alimenticia, eficiencia alimenticia y se medirá el peso de las gallinas (Morales *et al.*, 2018).

Preparación del inóculo

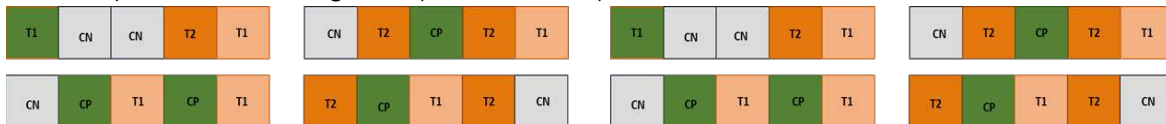
Se inocularán 3 UFC de *S. Enteritidis* en caldo soja tripticaseína (TAB), se incubará a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ y el inóculo se leerá cada 30 minutos con ayuda de un espectrofotómetro a una densidad óptica de 600 nm, hasta establecer un patrón 0.5 Mc Farland [10^6 UFC/mL] que corresponde a una absorbancia de 0.08 - 0.1, posteriormente, el cultivo será centrifugado a 4°C a 13,000 gravedades durante 15 minutos, el sobrenadante se desechará y la pastilla se suspenderá en agua destilada estéril para repetir el proceso tres veces hasta purificar la pastilla y suspender el inóculo bacteriano en agua destilada estéril para ser inoculada a las gallinas (Pérez *et al.* 2008).

Evaluación de la actividad antibacteriana *in vivo* del ajo fresco sobre *Salmonella* Enteritidis en el contenido del huevo y heces

Las 40 gallinas serán inoculadas oralmente con 10^6 UFC [*Salmonella* Enteritidis] (día 0), el día 10 posterior a la inoculación, se colectarán 7 huevos y 7 muestras de heces de cada uno de los 4 tratamientos para realizar el análisis bacteriológico y cuantificar la carga bacteriana en el contenido del huevo y heces, esto previo al inicio de los tratamientos; a partir del día 11 posterior a la inoculación, se iniciará con la inclusión de los tratamientos en el alimento de las aves. El control negativo (CN), incluirá solamente el alimento descrito anteriormente, para los tratamientos 1 (T1) y 2 (T2), se incluirá el 1% y 3% de ajo fresco en el alimento respectivamente. Como control positivo (CP) se administrará bacitracina de zinc al 10%. La colección de muestras se realizará los días 0, 10, 15, 18, 21 y 24; la recolección se hará con guantes estériles y se colocarán en recipientes estériles individuales, etiquetados para su identificación y trasladados en una hielera portátil al laboratorio inmediatamente donde serán procesadas.

Diseño del experimento

Cuadro 1. Esquema de la distribución de jaulas en el experimento. T1: tratamiento uno (1% de ajo en el alimento); T2: tratamiento dos (3% de ajo en el alimento); CP: control positivo (bacitracina); CN: control negativo (solo alimento).



Para asignar de manera aleatoria los animales a las jaulas y los tratamientos a las unidades experimentales se usará una hoja de cálculo de Excel con la función =(aleatorio).

Cuantificación de las UFC en el contenido del huevo y heces

Para el conteo de UFC en contenido del huevo y heces, se homogenizarán 12.5 mL (gramos en el caso de las heces) de la muestra en 112.5 mL de agua peptonada amortiguada (BPW por sus siglas en inglés), se dejará reposar 10 min y se mezclará con movimientos circulares hasta disolver la muestra, posteriormente se incubará en aerobiosis a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 h. En la segunda fase correspondiente al enriquecimiento selectivo, se transferirán 0.1 mL del cultivo de pre enriquecimiento (BPW) a un tubo con 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (RV) y se incubará a $42 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 h para mayor selectividad sobre *Salmonella* spp; se realizarán diluciones seriadas en una placa de Elisa con agua destilada estéril. Se colocarán 180 μL de agua destilada estéril en cada pozo de la micro placa (12 en total por fila), se tomarán 20 μL del caldo Rappaport Vassiliadis donde se sembró previamente la bacteria y se inocularán en el primer pozo, se homogenizarán y posteriormente se tomarán 20 μL para inocularlos en el segundo pozo, siguiendo así hasta realizar las 12 diluciones. De los pozos 2 (10^{-2}), 4 (10^{-4}), 6

(10^{-6}), 8 (10^{-8}), 10 (10^{-10}) y 12 (10^{-12}), se sembrarán 100 μ L en una caja de Petri con agar entérico Hektoen, se extenderá con una varilla de vidrio y se incubarán a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 h, el conteo de UFC se realizará por triplicado.

Análisis Estadístico

Para el experimento se utilizará un diseño completamente al azar (DCA). A los resultados de la evaluación antibacteriana, se realizarán las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Kolmogorov Smirnov y para probar homocedasticidad se usará la prueba de Bartlett. Para el análisis estadístico de los promedios, se realizará una prueba de ANDEVA y la comparación de medias será mediante la prueba de Tukey (Diferencia honesta significativa); en caso de no cumplirse los supuestos se realizará una transformación de datos, y en caso de no lograr normalizarse, se realizará la prueba de Kruskal-Wallis, el análisis de la varianza para un diseño de un solo factor y los promedios se compararán con la prueba de Dunn. Se determinará diferencia significativas cuando $P < 0.05$.

LITERATURA CITADA

- Al Massad M., Ramamneh D., Sharafat A., Hussain N. 2018. Effect of using garlic on the economical and physiological characteristics of broiler chickens. *Russian Agricultural Sciences*. 44(3): 276-281.
- Amagase H., Petesch B., Matsuura H., Kasuga S., Itakura Y. 2001. Intake of garlic and its bioactive components. *J. Nutr.* 131(3):955–962. Doi: 10.1093/jn/131.3.955S
- Bortolotto K. F. C., Costa C. S. P., Orso P. B., Wolupeck H. L., Holley R. A., Bittencourt L. F., Freitas M. R. 2018. Combined effects of garlic essential oil and allyl isothiocyanate against *Escherichia coli* O157:H7 in vitro and in pork sausage. *Cienc. Rural*. 48(10). Doi.org/10.1590/0103-8478cr20180233
- Cárdenas C. M. A., Enríquez V. I., Portillo L. J. J., Castro T. C. B., Ríos R. F. G., Castillo L. R. I., Castro del C. N. 2018. Actividad inhibitoria del extracto de ajo sobre *Salmonella* spp aislada de heces de gallinas en producción de huevo. Reunión Nacional de Investigación Pecuaria Memoria. Año 4, Vol. 1, Núm.1. 481-483
- CIAPAN. Guía para la asistencia técnica del Valle de Culiacán. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias. Culiacán, Sinaloa, México. 92 pp. 2002.
- Damaziak K., Riedel J., Gozdowski D., Niemiec J., Siennicka A., Róg D. 2017. Productive performance and egg quality of laying hens fed diets supplemented with garlic and onion extracts. *Journal Appl. Poultry Res.* 26(3): 337-349. Doi: 10.3382/japr/pfx001
- Dewaele I., Rasschaert G., Wildemaewe C., Van Meirhaeghe H., Vanrobaeys M., Graef E., Herman L., Ducatelle R., Heyndrickx M., De Reu K. 2012. Polyphasic characterization of *Salmonella* Enteritidis isolates on persistently contaminated layer farms during the implementation of a national control program with obligatory vaccination: A longitudinal study. *Poult. Sci.* 91(11): 2727–2735. Doi: 10.3382/PS.2012-02218.
- Diaz S. S., D'Sousa D., Biswas D., Hanning I. 2015a. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poult. Sci.* 94:1419–1430. Doi.org/10.3382/ps/pev014
- Diaz, S., S. Moscoso, F. Solís, A. Andino and I. Hanning. 2015b. Antibiotic use in poultry: a driving force for organic poultry production. *Food Protection Trends* 35(6): 440–444.

- Gamazo C. Irache J. M. 2007. *Salmonella* vaccines. Communicating current research and educational topics and trends in applied Microbiology. 518-524.pdf.
- García E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarla a las condiciones climáticas de la República Mexicana). Instituto de Geografía UNAM.144 pp. ISBN 970321010-4
- Gast R., Guraya R., Jones D., Anderson K. 2015. Persistence of fecal shedding of *Salmonella enteritidis* by experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. Poultr. Sci. 94(7): 1650–1656. Doi: 10.3382/ps/pev113
- Han J., Lawson L., G. Han and P. Han. 1995. Spectrophotometric method for quantitative determination of Allicin and total garlic thiosulfinates. Anal. Biochem. 25 (1):157–160. Doi:10.1006/abio.1995.1124
- Hannan A., Rauf K., Ikram M., Naeem T., Raja M., Usman M., Tahir R., Saba M. 2012. Inhibitory effect of aqueous garlic (*Allium Sativum*) extract against clinical isolates of *Salmonella typhi*. Afr. J. Microbiol. Res. 6(21): 4475–4480. Doi: 10.5897/AJMR11.540
- Majowicz S., Musto J., Scallan E., Angulo F., Kirk M., O'brien S., Jones T., Fazil A., Hoekstra R. 2010. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. Clin. Infect. Dis. 50(6): 882-889. Doi: 10.1086/650733
- Mollenhorst H., Van Woudenberg C. J., Bokkers E. G. M., de Boer I. J. M. 2005. Risk factors for *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. Poultr. Sci. 84: 1308–1313
- Morales W., Rodriguez V., Verjan N. 2018. Parámetros productivos y económicos de gallinas ponedoras ISA Brown en segundo ciclo de producción suplementadas con aminoácidos no esenciales. Rev. Inv. Vet. Perú. 29(2): 533-543. Doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14481
- OMS. 2012. *Salmonella* (no tifoidea). www.who.int/ (Consulta, junio 2018).
- OMS. 2015. Inocuidad de los alimentos Disponible en www.who.int/ (Consulta, noviembre 2016).
- Petropoulos S., Fernandes A., Barros L., Ciric A., Sokovic M., Ferreira I. S. 2018. Antimicrobial and antioxidant properties of various greek garlic genotypes. Food chem. 245(2018): 7-12. Doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.078
- Rivera C. L. G., Motta P. A., Cerón M. F., Chimonja F. A. 2012. Resistencia de la *Salmonella* a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento. Rev. CES Med. Vet. Zootec. 7(1): 115-127.
- Rocha C., Reynolds N. D., Simons M. P. 2015. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. RPMESP. 32(1): 139-145.
- Silva N. C. C., Fernández J. A. 2010. **Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity.** JVATTD. 16(3): 402-413.
- Tosun S. Y., Alakavuk D. U., Ulusoy S., Erkan N. 2017. Effects of essential oils on the survival of *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on fresh atlantic salmon (*Salmo salar*) during storage at 2 ± °C. J. Food Saf. 38 (1): 1-6. Doi.org/10.1111/jfs.12408
- UNA. 2016. 52° Congreso nacional de avicultura en Huatulco. www.una.org.mx/ (Consulta, noviembre 2016).
- UNA. 2017. Situación de la avicultura Mexicana. www.una.org.mx/ (consulta, febrero 2019).
- USDA. 2018. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. www.fas.usda.gob/ (Consulta, febrero 2019).

Vargas, L., Mamani J., Álvarez E., Rebollo M., Romero R. 2014. Función antimicrobiana de la alicina de ajo en cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Rev. Cient. Cienc. Med. 17(1): 26-28.

Villagómez, E. S., M. Logacho y C. Vinueza. 2017. Presencia y resistencia a los antimicrobianos de serovariedades de *Salmonella enterica* aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. REMCB. 38(1): 11-24. Doi: 10.26807/remcb.v38i1.17

EVALUACIÓN DEL STOCK TEMPLADO DE SARDINA DEL PACIFICO (*Sardinops sagax*) EN EL SUR DE LA CORRIENTE DE CALIFORNIA.

Concepcion Enciso Enciso¹, Rebeca Sánchez Cardenas¹, Manuel O. Nevárez Martínez², Carolina V. Minte Vera³, Luis Antonio Salcido Guevara¹, Guillermo Rodríguez Dominguez¹

¹Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR-UAS).

concepcion.enciso@gmail.com

²Instituto Nacional de Pesca CRIP-Guaymas

³Comisión Interamericana de Atún Tropical CIAT

RESUMEN

Se presenta la evaluación del stock templado de sardina del Pacífico (*Sardinops sagax*) en la costa occidental de la península de Baja California para el periodo de 1989 a 2018. A partir de datos de capturas por edades, el esfuerzo pesquero e indicadores independientes de la pesquería (Índice de huevos y estimación de biomasa por acústica), se aplicó un Análisis Estadístico de Captura por Edades, modelo con el cual permitió estimar el tamaño de la biomasa poblacional por grupos de edad y además generar algunos puntos de referencia biológicos para su manejo. Los resultados indican una gran variabilidad interanual en la estimación de la biomasa total, oscilado entre 621,112 y 1162,428 t, y un promedio de 841,577 t; para el año de 2018 la biomasa total se estimó en 836,007 t con un intervalo al 95% de confianza entre 820,313 y 851,700 t.. La estimación de Biomasa Crítica fue de 90,219 t demostrándose que no hay evidencia de un efecto depensatorio en la población. Así mismo, se estimó la Captura Biológicamente Aceptable para el año 2019 ($CBA_{2019} = 125,863$ t). Asimismo se proyecta el nivel de explotación a lo largo del periodo analizado, encontrando que el stock templado de sardina del Pacífico ha sido explotado por debajo de la Regla de Control.

Palabras clave: Sardina Monterrey, stock templado, abundancia, medidas de manejo.

ABSTRACT

The evaluation of the Pacific sardine temperate stock (*Sardinops sagax*) on the west coast of the Baja California peninsula for the period from 1989 to 2018 is presented. Based on catch data by age, the fishing effort and independent indicators of the fishery (egg index and biomass estimation by acoustics), a Statistical Capture Analysis by Age was applied, a model with which it was possible to estimate the size of the population biomass by age groups and also generate some biological reference points for its management . The results indicate a great interannual variability in the estimation of the total biomass, oscillating between 621,112 and 1,162,428 t, and an average of 841,577 t; for the year 2018 the total biomass was estimated at 836,007 t with a 95% confidence interval between 820,313 and 851,700 t. The estimate of Critical Biomass was 90,219 t, showing that there is no evidence of a population-dependent thinking effect. Likewise, the Biologically Acceptable Catch was estimated for the year 2019 ($CBA_{2019} = 125,863$ t). Likewise, the exploitation level is projected throughout the analyzed period, finding that the temperate Pacific sardine stock has been exploited below the Control Rule.

Keywords: Monterrey Sardine, temperate stock, abundance, management **measures**.

INTRODUCCIÓN

La sardina del Pacífico (*Sardinops sagax*) o también conocida como sardina Monterrey soporta una de las pesquerías más importantes en el Sistema de la Corriente de California (SCC), siendo con frecuencia la especie dominante (Emmett *et al.* 2005). Es un recurso altamente migratorio que se caracteriza por presentar fluctuaciones importantes a escala espacio temporal que alteran su distribución, abundancia, disponibilidad y sobre todo su vulnerabilidad en las zonas tradicionales de pesca (Nevarez-Martinez *et al.* 2006).

Cuando su abundancia es alta, se distribuye desde Alaska hasta Baja California Sur y en el Golfo de California (Kramer y Smith 1971; Parrish, Serra y Grand 1989). Cuando es baja su abundancia, como ocurrió en las décadas 50-70, la sardina solo se localiza en la costa occidental de la península de Baja California y Golfo de California y no en cantidades comerciales al norte de Monterey, California, EUA (Hill, Crone y Zwolinski 2017).

Se ha propuesto que existen dos centros de distribución: 1) En el Golfo de California, alrededor de las grandes islas, y 2) Al oeste de la península de Baja California, frente a Punta Eugenia, por lo que a partir de esos centros de distribución la sardina monterrey se expande y se contrae obedeciendo señales ambientales (Lluch-Belda *et al.* 1989, Lluch-Belda, Lluch-Cota y Lluch-Cota, 2003). Por otro lado, se reconoce la existencia de tres stocks que responden de manera independientes, cada uno adaptado a diferentes intervalos de temperatura (Félix-Uraga *et al.* 2004, 2005, Smith 2005).

En los últimos años se ha observado que la abundancia del stock frío de sardina ha estado disminuyendo. Desde el 2013 no se reportaron capturas de esta especie en la pesquería de Vancouver, Canadá. En las costas de Estados Unidos, tanto las capturas como las estimaciones recientes de la biomasa poblacional de sardina, presentan una marcada disminución poblacional de 1.8 millones de toneladas de biomasa explotable estimada para el 2005 a 56 mil toneladas estimada para el 2018 (Hill *et al.* 2018). Esto puede ser una repetición de lo ocurrido hace 60 años en la pesquería de sardina de California, cuya población colapsó primero en las regiones norteñas y posteriormente el colapso progresó hacia la parte sur, lo que obligó al gobierno de Estados Unidos a declarar una moratoria en la pesca de la sardina del Pacífico (Wolf, 1992).

En virtud de lo anterior, el manejo de la pesquería representa un gran reto. De acuerdo con el Plan de Manejo Pesquero para la Pesquería de Pelágicos Menores (PMP), se propone que los stocks sean manejados de forma activa, es decir, utilizando una regla de control, la cual será proponiendo cuotas de capturas en función del tamaño de la biomasa (DOF, 2012).

Sobre el particular y para dar cumplimiento a lo establecido en el PMP, se requiere estimar anualmente la biomasa de cada uno de los stocks de pelágicos menores, en particular los stocks de *S. sagax* y de esta manera orientar el manejo de la actividad.

En el presente trabajo, se plantea realizar la evaluación de la biomasa existente del stock templado de sardina monterrey, el cual se distribuye a lo largo de la costa occidental de la península de Baja California y sur de California en EE.UU. Esto, a través de la aplicación del Análisis Estadístico de Captura por Edades (SCA). Con los resultados obtenidos, se podrán proveer los elementos técnicos necesarios (puntos de referencia) para que la autoridad en la materia implemente las medidas de manejo que garanticen la sustentabilidad de la actividad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando lo establecido en el PMP, de que los stocks sean manejados de forma activa en función de la abundancia, es de gran importancia evaluar el estado actual de la biomasa del stock templado de *S. sagax*, correspondiente a la costa occidental de la península de Baja California, México. Esto, con la finalidad de aportar los elementos técnicos necesarios y así establecer las medidas de manejo que permitan garantizar la sustentabilidad de la actividad.

HIPÓTESIS

El stock templado de la sardina del Pacífico (*S. sagax*) ha sido aprovechado de manera sustentable a lo largo del periodo de explotación (1989-2018).

OBJETIVOS

Evaluar el stock templado de la sardina monterrey *S. sagax* en la costa occidental de la península de Baja California.

- Discriminar la captura de los diferentes stocks de sardina monterrey *S. sagax*.
- Estimar los parámetros poblacionales del stock templado de *S. sagax*: biometrias, crecimiento y mortalidad natural.
- Evaluar la abundancia mediante un modelo estructurado por edades.
- Estimar la biomasa crítica del stock templado de *S. sagax*.
- Proyectar el nivel de explotación del stock templado de *S. sagax* a lo largo del periodo analizado (1989-2018).

MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio

El área de estudio comprende la zona de distribución del stock templado de *S. sagax*, el cual es capturado al sur de California en EE.UU. y a lo largo de la costa occidental de la península de Baja California.

Fuente de la información

La información para evaluar la abundancia del stock templado de *S. sagax*, provienen de los programas de monitoreo de pelágicos menores del Instituto Nacional de Pesca (INAPESCA), el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) y del Southwest Fisheries Science Center, con sede en La Jolla, CA. EE.UU. Integrando una base de datos desde 1989 a 2018, en la que se incluye información de capturas por mes, el esfuerzo (viajes de pesca), la estructura de tallas y las edades en número de individuos fue determinada para cada año del periodo analizado a través de la lectura de las marcas de crecimiento en los otolitos.

Discriminación de los diferentes stocks.

Con el fin de dividir los desembarques y las composiciones biológicas atribuidas a los diferentes stocks, se utilizó el criterio de discriminación de los stocks de temperatura por captura (Felix-Uraga *et al.*, 2004), los diferentes grupos fueron definidos mensualmente para el periodo 1981 a 2017 para cada una de las zonas de capturas: el stock cálido (SC) a temperaturas superiores a 22 ° C, el stock templado (ST) entre 17 ° y 22 ° C, y el stock frío (SF) a temperaturas por debajo de 17 ° C. Los promedios mensuales de la temperatura superficial del mar (TSM) fueron obtenidos por cuadrantes de 2° latitud por 2 ° longitud a través de <https://giovanni.gsfc.nasa.gov>. Los cuadrantes seleccionados fueron 23-25 ° N por 112-114 ° W para Bahía de Magdalena, 27-29 ° N por 115-117 ° O para Isla de Cedros, 30-32 ° N por 117-119 ° O para Ensenada, y 32-34 ° N por 118-120 ° O para San Pedro.

El ajuste del crecimiento se realiza mediante el modelo de Schnute (1981); el cual, permite comparaciones de funciones de crecimiento del tipo asintótico y no asintótico, el modelo presenta cuatro casos y el caso 5, que es un caso especial equivalente al modelo de Von Bertalanffy.

Las conversiones entre la longitud o edad y el peso se realizan utilizando la relación longitud-peso a través del modelo potencial, mediante la siguiente función:

$$W = aL^b$$

Dónde W es el peso total (g) y L es la longitud patrón (mm).

Las frecuencias de tallas se agrupan en intervalos de 10 mm de L y, posteriormente, se convierten a edades mediante el método de rebanado propuesto por Sparre y Venema (1997).

Análisis Estadístico de Captura por Edades (SCA)

A partir de la captura por edades se aplica el análisis de captura por edades (SCA), descrito por Haddon (2011), el cual requiere de una estimación previa de la tasa instantánea de mortalidad por pesca (M) la cual se considera constante durante la fase de explotación de cada cohorte y de una estimación de F para el grupo de edad más viejo en las capturas (Sparre y Venema, 1997). Para el cálculo de la mortalidad natural (M) se utilizó la siguiente fórmula empírica:

$$\ln M = -0.0152 - 0.279 \ln L_{\infty} + 0.65 \ln K + 0.463 \ln T$$

Dónde: M es la tasa de mortalidad natural, L_{∞} y K = Parámetros del modelo de von Bertalanffy.

Con el reclutamiento inicial, y la tasa máxima de mortalidad por pesca a la edad para cada año combinada con la mortalidad natural (M), se completó la matriz de número de individuos por edades:

$$N_{a+1,t+1} = N_{a,t} \exp^{-(M+F_{a,t})}$$

$$F_{a,t} = F_t S_a$$

Donde $N_{a,t}$ es el número de sardinas, $F_{a,t}$ es la mortalidad por pesca, a la edad a durante el año t , M es la mortalidad natural y S_a es la selectividad a la edad a .

Una vez que se estimó el número de organismos por grupo de edad, se pudo generar la captura a la edad estimada $\hat{C}_{a,t}$ (Baranov, 1918):

$$\hat{C} = F(a,t) / (M + F(a,t)) N_{a,t} (1 - e^{-(M+F_{a,t})})$$

Además, se incorporó información independiente de la pesquería: Índice de abundancia de huevos y larvas e Índice de biomasa por acústica.

Para ajustar el modelo se sumaron las diferentes funciones de Verosimilitud:

$$LL^{total} = LL^C + LL^F + LL^R + LL^{DEPM} + LL^{Larvas} + LL^{Acust}$$

Biomasa crítica

El análisis de la relación stock-reclutamiento se realizó a través de dos modelos (Ricker y Beverton-Holt). A ambos modelos se le incorporó el parámetro λ dentro de la ecuación (Chen, Irvine y Cass, 2002) de este modo la relación se expresó como:

$$R_t = \alpha (S_{t-1} - \lambda) e^{-\beta(S_{t-1} - \lambda)} e^{w_t} \quad \text{Modelo de Ricker Modificado}$$

$$R_t = R_t = \frac{\alpha (S_{t-1} - \lambda)}{\beta + (S_{t-1} - \lambda)} e^{w_t} \quad \text{Modelo de Beverton-Holt modificado}$$

Se compararon los diferentes ajustes de modelos utilizando el criterio de información de Akaike (AIC), donde los valores más bajos de AIC representan los mejores modelos (Haddon 2011).

Proyección del nivel de explotación

De acuerdo a lo recomendado por el Plan de Manejo, la Regla de Control queda como la siguiente formulación:

$$CBA = (B - B_{min}) * FRACCION$$

De tal manera que la Regla de Control estará en función del tamaño de la biomasa y el nivel de explotación a lo largo del periodo analizado estará en función de la siguiente relación:

$$\frac{Cobs}{CBA} \leq 1$$

En caso que el nivel de explotación sea menor a 1, se infiere que la explotación es adecuada y cuando el nivel es mayor a 1, podemos inferir que se está sobrexplotando y por lo tanto no es sustentable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Discriminación de la captura de los stocks *S. sagax*

Del total de captura de *S. sagax* en la costa occidental de la península de Baja California durante el periodo de 1989 a 2018, el 67% pertenece al stock templado (17°C- 22°C), el 20% corresponde al stock caliente (>22°C) y solo el 13% corresponde al stock frío (<17°C) (Figura 1).

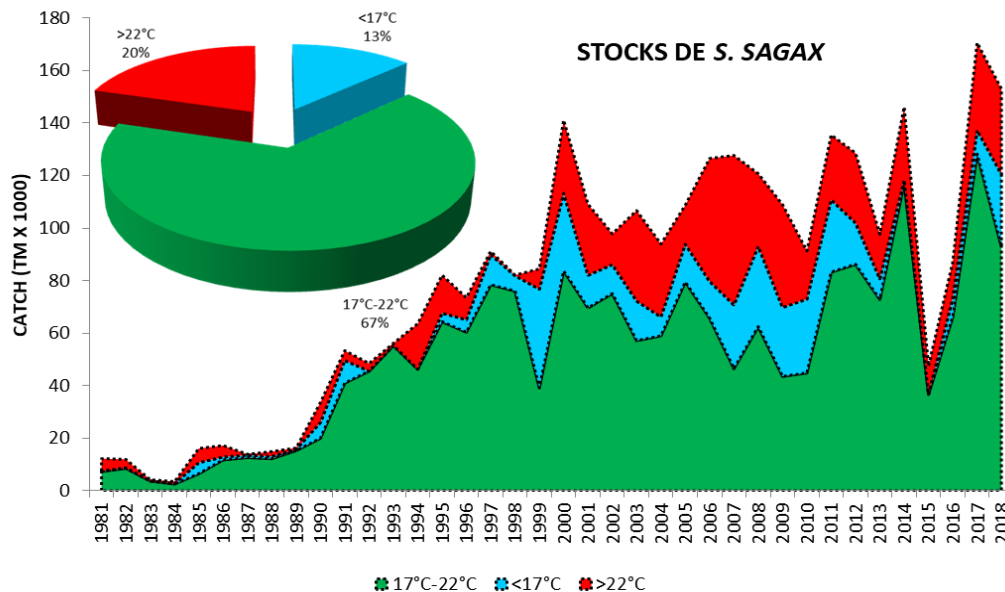


Figura 1.- Captura de diferentes stocks de *S. sagax* en la costa occidental de la península de Baja California durante el periodo de 1989 a 2018.

Relaciones biométricas de *S. sagax*

Al evaluar la relación PT-LP entre sexos, los resultados no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$). por lo que se obtuvo una relación entre las variables sin considerar el sexo. Se determinó un crecimiento hipoalométrico en el stock templado de *S. sagax*, esto, de acuerdo a los intervalos de confianza en la estimación de la pendiente (Tabla I).

Tabla I. Intervalos de confianza (IC) al 95% de confianza ($\alpha=0.05$) de los parámetros a y b obtenidos del modelo potencial en el stock templado de sardina del Pacífico *S. sagax*.

Parámetro	IC inferior	Promedio	IC superior	n
a	1.82E-05	1.82E-05	1.83E-05	50192
b	2.9532	2.9535	2.9538	

Crecimiento

Se trabajó con 16,640 datos con un intervalo de tallas de 88 a 271 mm de longitud patrón (LP). Se encontró que los mejores ajustes fueron para el caso 2 (Gomperzt) con un peso de Akaike (ω_i) de 63.9%, y el caso 5 (Von Bertalanffy) con una plausibilidad de 33.97%. La diferencia del índice de Akaike (ΔAIC) en ambos casos fue de 1.26 y el resto de los casos (1, 3 y 4) tuvieron muy bajo o nulo soporte en los datos (Tabla II). Sobre esta base, para futuros análisis es factible utilizar cualquiera de los modelos “ganadores”. En la Tabla III se presenta los estimados de los parámetros del modelo de von Bertalanffy con sus respectivos intervalos de confianza (IC).

Tabla II. Valores del índice y peso de Akaike ($\omega_i\%$) para la selección del mejor caso del modelo de crecimiento del stock templado de sardina del Pacífico *S. sagax*.

Caso	y_1	y_2	a	b	AIC	ΔAIC	$\omega_i\%$
1	144.74	201.73	1.03	-6.93	49.496	8.30	1.01
2	143.63	202.95	0.51	0.00	41.192	0.00	63.90*
3	143.80	205.24	0.00	7.55	49.336	8.14	1.09
4	157.48	211.27	0.00	0.00	56.524	15.33	0.03
5	143.54	203.16	0.44	1.00	42.456	1.26	33.97*

* Modelos ganadores.

Tabla III. Intervalos de confianza (IC) al 95% de confianza ($\alpha=0.05$) de los parámetros del modelo de crecimiento de Von Bertalanffy estimados para el stock templado de *S. sagax*.

Parámetro	IC inferior	Promedio	IC superior
t_0 (año ⁻¹)	-2.823	-2.724	-2.631
L_{∞} (mm)	206.450	208.206	209.950
k (año ⁻¹)	0.419	0.431	0.443

Estimación de la abundancia

La biomasa total presentó una alta variabilidad oscilando entre 621,112 y 1162,428 t, y un promedio de 841,577 t; para el año de 2018 la biomasa total se estimó en 836,007 t con un intervalo al 95% de confianza entre 820,313 y 851,700 t. La biomasa explotable también presentó una tendencia similar, con un mínimo de 508,941 t en el año de 2015 y un máximo de 937,012 t en 2011, para el 2018 se estimó en 599,594 t y un intervalo al 95% de confianza entre 579,878 y 619,311 t (Figura 2).

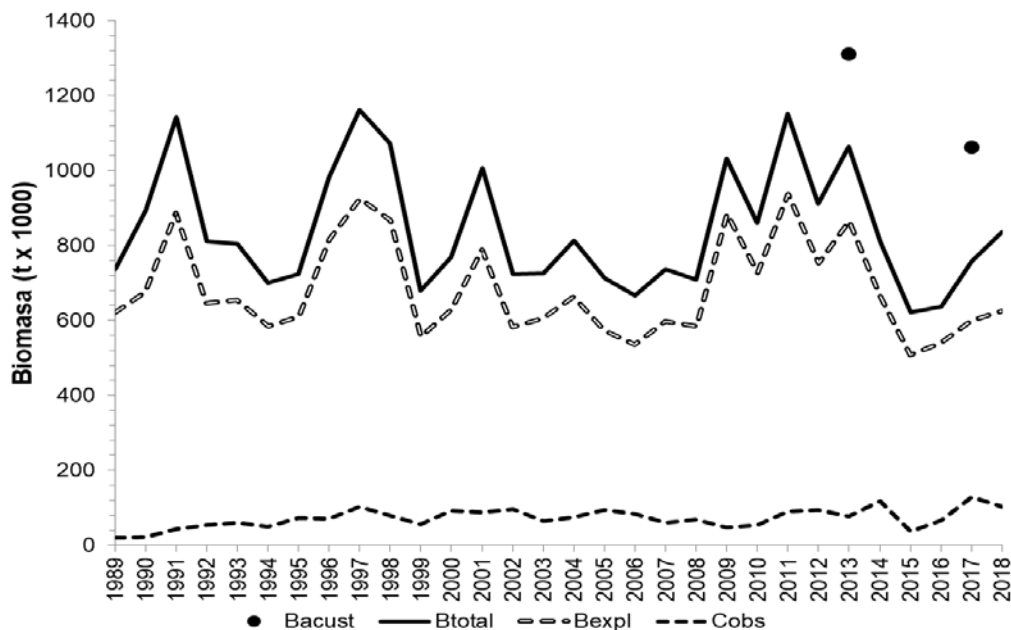


Figura 2.- Estimación de la Biomasa total y explotable del stock templado de sardina monterrey (*S. sagax*).

Biomasa Crítica

Los parámetros de las variantes de Ricker y Beverton-Holt con sus respectivas modificaciones se presentan en la Tabla IV. Se encontró que el mejor ajuste lo presentó el modelo de Ricker modificado, con un peso de Akaike (ω_i) de 73.3%, y de una plausibilidad de 26.7 % para el modelo de Beverton-Holt. La diferencia del índice de Akaike (ΔAIC) en ambos casos fue de 2.02, lo cual indica que ambos modelos tuvieron un buen soporte en los datos. Sin embargo, aunque la diferencia fue mínima, la estimación de Biomasa Crítica (B_{min}) fue 1,300 millones de

reproductores, lo que equivale a 90,219 t, con lo cual se demuestra que no hay evidencia de un efecto depensatorio en el stock templado de *S. sagax*.

Tabla IV.- Comparación de los parámetros estimados por los diferentes modelos de la relación parentela-progenie y selección utilizando el índice y peso de Akaike.

Modelo	α	β	λ	LL	AIC	Wi
Beverton Holt*	714 (687-739)	23.5 (14-33)	188 (75-227)	26.63	-46.3	26.7
Ricker*	6.07 (5.86-6.28)	0.0033 (0.0032-0.0034)	130 (87-162)	27.64	-48.3	73.3

Proyección del nivel de explotación

Al aplicar la regla de control estipulada en el Plan de Manejo Pesquero, bajo la consideración de que $BMIN=27,514$ t y $FRACCION=1-\exp(-F_{RMS})$, se estimó que la población del stock templado de sardina monterrey a lo largo del periodo analizado ha sido explotada por debajo de la Captura Biológicamente Aceptable (CBA) estimada a excepción del año 2017 donde se alcanzó la CBA (Figura 3).

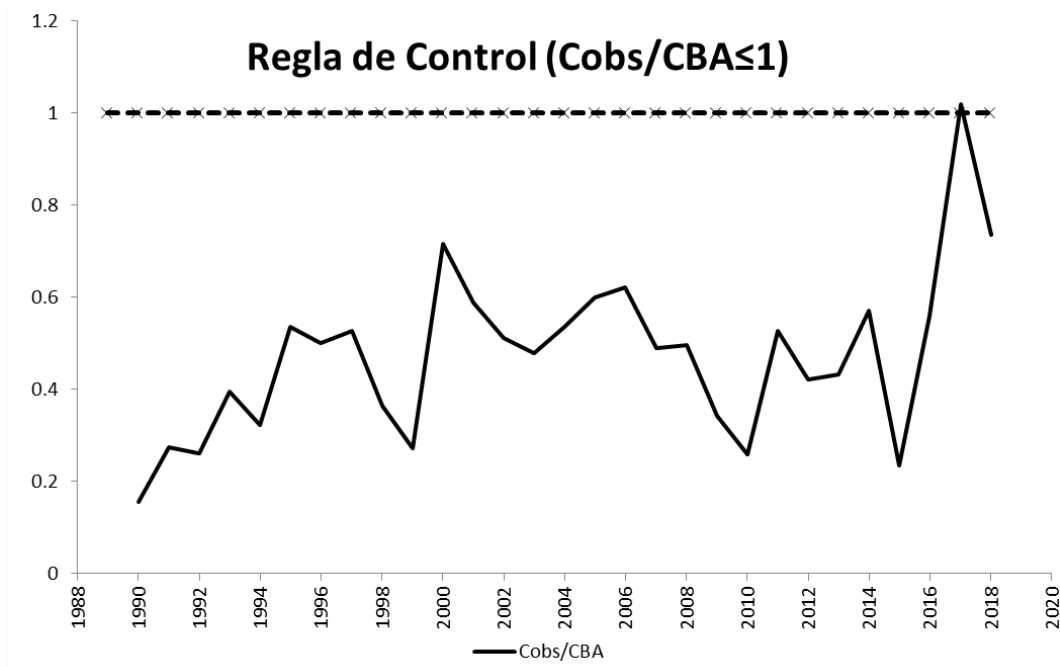


Figura 3.- Proyección del nivel de explotación del stock templado de *S. sagax* en la costa occidental de Baja California durante el periodo de 1990 a 2018.

CONCLUSIONES

Al aplicar la regla de control estipulada en el Plan de Manejo Pesquero, bajo la consideración de que $BMIN=27,500$ t y $FRACCION=1-\exp(-F_{RMS})$, se encontró que el stock templado de sardina monterrey ha sido explotada por debajo de la CBA.

Por lo anterior, no se rechaza la hipótesis planteada: El stock templado de *S. sagax* ha sido aprovechado de manera sustentable a lo largo del periodo de explotación (1989-2018).

LITERATURA CITADA.

Chen D.G., Irvine J.R., Cass A.J. 2002. Incorporating Allee effects in fish stockrecruitment models and applications for determining reference points. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 59: 242-249.

DOF. 2012. Acuerdo por el que se da a conocer el Plan de Manejo Pesquero para la Pesquería de los Pelágicos Menores (sardinias, anchovetas, macarela y afines) del Noroeste de Mexico. Diario Oficial de la Federación. México. 08 de noviembre de 2012.

Emmett R.I., Brodeur R.D., Miller T.W., Pool S.S., Krutzikousky G.K., Bentley P.J., Mccrae J. 2005. Pacific Sardine (*Sardinops sagax*) abundance, distribution, and ecological relationships in the Pacific northwest. CALCOFI, 46: 122-143.

Félix-Uraga R., Quiñonez-Velazquez C., Hill K.T., Gómez-Muñoz V.M., Melo-Barrera F.N., García-Franco W. 2004. On the existence of Pacific sardine groups off the west coast of Baja California and Southern California. CALCOFI, 45: 146-151.

Felix-Uraga R., Gomez-Munoz V.M., Quinonez-Velazquez C., Melo-Barrera F.N., Hill K.T., García-Franco W. 2005. Pacific Sardine (*Sardinops sagax*) Stock Discrimination off the West Coast of Baja California and Southern California Using Otolith Mophometry. CALCOFI, 46: 113-121.

Haddon M. 2011. Modeling and quantitative methods in fisheries. Editorial Chapman-Hall. London, England. 433p.

Hill K.T., Crone P.R., Zwolinski J.P. 2017. Assessment of the Pacific sardine resource in 2017 for U.S. management in 2017-18. US Department of Commerce. NOAA Tech. Memo. NMFS-SWFSC-576. 262 p.

Kramer D. y Smith P.E. 1971. Seasonal and geographic characteristics of fishery resources. California current. Region VII. Pacific Sardine. Commer. Fish. Rev. 33(10):7–11.

Lluch-Belda D., Crawford R.J., Kawasaki T., MacCall A.D., Parrish R.H., Schwartzlose R.A., Smith P.E. 1989. Worldwide fluctuations of sardine and anchovy stocks: The regimen problem. South African Journal of Marine Science, 8: 195–205.

Lluch-Belda D., Lluch-Cota D.B., Lluch-Cota S.E. 2003. Baja California's Biological Transition Zones: Refuges for the California Sardine. *Journal of Oceanography*, 59:503-513.

Nevárez-Martínez M.O., Martínez-Zavala M.A., Cotero-Altamirano C.E., Jacob-Cervantes M.L., Green-Ruiz Y.A., Gluyas-Millán G., Cota-Villavicencio A., Santos-Molina J.P. 2006. Peces Pelágicos Menores. En: *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México. Evaluación y Manejo*. Instituto Nacional de Pesca. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 544p.

Parrish R.H., Serra R., Grant W.S.. 1989. The monotypic sardines, *Sardina* and *Sardinops*: their taxonomy, distribution, stock structure, and zoogeography. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46:2019–2036.

Smith P.E. 2005. A history of proposals for subpopulation structure in the Pacific sardine (*Sardinops sagax*) population off western North America, *CalCOFI*, 46: 75-82.

Sparre P. y Venema S.C. 1997. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1. Manual. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 306.1. Rev 2: 420 p.

Wolf P. 1992. Recovery of the Pacific sardine and the California sardine fishery. *CalCOFI*, 33: 76-86.

REACTIVIDAD CRUZADA DE LAS PROTEINAS DE *Mycobacterium smegmatis* CON SUEROS DE TUBERCULOSIS BOVINA

Gilberto Quevedo Rocha¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Héctor López Pérez¹

Doctorado en ciencias agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia de la universidad autónoma de Sinaloa.

gilberto.quevedo.fmvz@uas.edu.mx

RESUMEN

El complejo *Mycobacterium tuberculosis* causa alrededor de 2 millones de defunciones cada año, en México se estiman muertes por más de tres mil personas anualmente y grandes pérdidas económicas por decomisos y desechos de animales enfermos, además de los gastos generados por los diagnósticos para controlar la enfermedad y mantener los hatos libres. Con la finalidad de determinar los grupos de proteínas de *Mycobacterium smegmatis* que presentan reactividad cruzada bajo condiciones de limitaciones con fósforo con sueros de bovino positivos a tuberculosis, se utilizó para el presente estudio La cepa de *M.smegmatis* mc2 155, se cultivó en medio sólido y líquido 7H9 (DifcoBD®), suplementado con 0.5% de glicerol y 0.05 % de Tween 80. la concentración se estimó mediante el método de Bradford (1976). Inmunodetección por Western Blots. Las proteínas se separaron por electroforesis en geles de SDS-PAGE al 12%. En los estudios preliminares tenemos que existe un complejo de proteínas del sobrenadante expresadas en limitación de fósforo que son reconocidas por sueros de bovinos positivos a tuberculosis.

ABSTRACT

The *Mycobacterium tuberculosis* complex causes around 2 million deaths every year, in Mexico deaths are estimated by more than three thousand people annually and great economic losses due to seizures and waste of sick animals, in addition to the expenses generated by the diagnoses to control the disease and keep the herds free. In order to determine the groups of *Mycobacterium smegmatis* proteins that show cross reactivity under conditions of phosphorus limitations with bovine sera positive for tuberculosis, the strain of *M. smegmatis* mc2 155 was used for the present study, it was cultivated in solid medium and 7H9 liquid (DifcoBD®), supplemented with 0.5% glycerol and 0.05% Tween 80. The concentration was estimated by the method of Bradford (1976). Immunodetection by Western Blots. The proteins were separated by electrophoresis in 12% SDS-PAGE gels. In the preliminary studies we have that there is a protein complex of the supernatant expressed in phosphorus limitation that are recognized by sera of bovines positive for tuberculosis.

INTRODUCCIÓN

La causa más común de la tuberculosis en humanos es por *M. tuberculosis* produciendo cada año la muerte de alrededor de 2 millones de personas (Viñuelas et al., 2017; OMS 2019). Siete países acaparan el 64% de la mortalidad total; encabeza esta triste lista la India, seguida de Indonesia, China, Filipinas, el Pakistán, Nigeria y Sudáfrica (OMS, 2017) Entre 2600 y 2700 son los casos de muertos por Tb en México, Nuestro estado participa con un promedio entre 80 y 90 de muertos al año registrados por defunción de esta enfermedad (OMS, 2015; CENAPRECE, 2015)), El éxito de *M. tuberculosis* como patógeno deriva de su fácil adaptación al medio intracelular de los macrófagos humanos (Mehrotra et al., 2014) La patogénesis de *M. tuberculosis* depende de la secreción de factores clave de virulencia, tales como ESAT-6. Al estar atrapadas en el interior de las células del hospedero *M. tuberculosis* debe responder a las condiciones de carencia de nutrientes. Lo cual inducen determinadas proteínas, las cuales dependen del tipo de nutriente limitado (Groat et al., 1986; Siegele y Kolter, 1992). Algunos aspectos de la patogenicidad son una respuesta de supervivencia al agotamiento de nutrientes (Siegele y Kolter, 1992). De la misma se ha demostrado la síntesis del antígeno b de 38 kDa se induce bajo la carencia de fosfato, lo cual indica a la proteína está involucrada en el metabolismo del fosfato en *M. tuberculosis* (Andersen et al., 1990), con la consecuente generación de antígenos reconocidos por los mecanismos de defensa del hospedero, las funciones metabólicas sirven para la adaptación a las condiciones cambiantes varían en la antigenicidad de las micobacterias patógenas (Brodin et al., 2004). Mientras las micobacterias avirulentas como *M. smegmatis*, en un esfuerzo por sobrevivir a las condiciones hostiles, pueden sacar una respuesta similar a *M. tuberculosis* en los hospederos aunque sin prosperar por largos periodos, por ser estas enzimas ortólogas y no están adaptadas para responder a las condiciones imperantes, tal como se demuestra en *M. smegmatis* donde se induce una activación sostenida de la proteína p38 o MAPKs (acrónimo en inglés: Mitogen-Activated Protein Kinases) y la ERK $\frac{1}{2}$ (por sus siglas en inglés: Extracelular signal-Regulated Kinases) en los macrófagos derivados de la médula ósea de ratón (Ganguly et al., 2008). La activación de MAPKs eleva los niveles de producción de factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) durante la infección de *M. smegmatis*, a diferencia de lo sucedido con la proteína MAPKs producida por las micobacterias del complejo *M. tuberculosis* (Roach y Schorey, 2002; Yadav et al., 2004). En *M. tuberculosis*, las acciones de MAPKs permiten manipular la apoptosis a nivel de las caspasas (Herbst et al., 2005; Li et al., 2006; Derrick y Morris, 2007). Así como translocarse del fagosoma al citosol (van der Wel et al., 2007; MacGurn y Cox, 2007; Simeone et al., 2012; De Leon et al., 2012). La virulencia de *M. tuberculosis* le permite evadir el TNF- α de los macrófagos, el cual tiene una relación inversamente proporcional en las micobacterias apatógenas como *M. smegmatis*, *M. tuberculosis* H37Ra y *M. bovis* BCG (Falcone et al., 1997). Estas diferencias en *M. tuberculosis* son las que le permiten permanecer en el hospedero. Sin embargo, la actividad metabólica de las micobacterias como *M. smegmatis* es similar a las del complejo *M. tuberculosis* (Reyrat y Kahn, 2001), aunque existen diferencias muy marcadas donde se probaron los cambios conformacionales dependientes del pH de MtbESAT-6 y MsESAT-6, en condiciones de pH ácido, MtbESAT-6 experimenta un cambio conformacional significativo, caracterizado por una mayor hidrofobicidad expuesta a disolvente, mientras MsESAT-6 muestra

poco cambio conformacional en respuesta a la acidificación, donde MtbESAT-6 posee una única actividad de interacción de la membrana y no se encuentra en MsESAT-6, (De león *et al.*, 2012), sin embargo en condiciones de limitación de nutrientes específicamente el fósforo si expresa el gen *esat-6* (López *et al.*, 2016). Aunado a todos estos acontecimientos se determinarán los grupos de proteínas de *M. smegmatis* que presentan reactividad cruzada bajo condiciones con limitaciones de fósforo por sueros de bovino positivos a tuberculosis.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad infectocontagiosa crónica del ganado vacuno causada por una bacteria llamada *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), de categoría III de riesgo/peligro de notificación obligatoria para todos los países según código Sanitario de Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) por su alto contagio a los humanos (OIE, 2019). Puede afectar a personas de cualquier edad. Las personas con mayor riesgo son aquellas inmunosuprimidas. A nivel mundial se encuentra dentro de las enfermedades bacterianas causantes del 90% de las defunciones en el mundo según la Organización Mundial de la Salud. Los mecanismos de patogenicidad del complejo *M. tuberculosis* se relacionan con su capacidad de sobrevivir en un ambiente hostil dentro de los macrófagos. Al estar atrapadas en el interior de las células del hospedero *M. tuberculosis* debe responder a las condiciones de carencia de nutrientes

¿Cuál es la reactividad cruzada de las proteínas de *M. smegmatis* bajo condiciones de limitación con fósforo en sueros de Tuberculosis Bovina?

HIPÓTESIS

La limitación de fósforo en el medio de cultivo genera condiciones metabólicas en *M. smegmatis* que provocan variación antigénica para los sueros de bovinos positivos a tuberculosis.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los grupos de proteínas de *M. smegmatis* que presentan reactividad cruzada bajo condiciones con limitaciones de fósforo por sueros de bovino positivos a tuberculosis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Obtener Proteínas de *M. smegmatis* restringidas en fósforo.

Expresar proteínas de *M. smegmatis* bajo restricción de fósforo.

Detectar proteínas antigénicas de *M. smegmatis* con sueros de bovinos positivos a tuberculosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Parasitología (Unidad de Biología Molecular) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Preparación de los medios de cultivo, la cepa de *M. smegmatis* que se utilizó es la mc2 155, se cultivó en medio sólido 7H9 (Difco BD®), para la expresión de las proteínas se suplementó con 0.5% de glicerol y 0.05% de Tween 80 y con restricción de fósforo. Los cultivos se crecieron hasta la fase estacionaria D.O. Después, se llevaron a cabo los experimentos para extraer las proteínas del sobrenadante, las proteínas totales se obtuvieron por centrifugación a 4000 rpm/10 min. El sobrenadante se precipitó en alcohol absoluto 1:1, por 24 h a -70° C. Después se centrifugaron a 18600 rpm 1 h a 4° C, el concentrado de proteínas del sobrenadante, se suspendió en PBS y la concentración de proteínas se estimó mediante el método de Bradford (1976). Para detectar las proteínas antigénicas se realizó por inmunodetección por Western Blots, las proteínas se separaron por electroforesis en geles de SDS-PAGE al 12%. El gel se transfirió a membrana de nitrocelulosa, se incubó en leche descremada al 5% (Difco BD®) en 0.05% de PBS-Tween 20 (PBS-T), por 1 h a temperatura ambiente, se enjuagó con PBS-T 3 veces x 10 min y se incubó con 2 sueros de bovinos positivos a tuberculosis durante la noche a 4° C. Las membranas se lavaron 3 veces por 10 min en PBS-T. Posteriormente, las membranas se incubaron con proteína A conjugada a la peroxidasa durante 2 h y se lavaron 3 veces, por 10 min, con PBS-T. La reacción antígeno-anticuerpo se reveló por la reacción del peróxido de hidrógeno.

ESTABLECIMIENTO DE LA HOMOLOGÍA DE LAS PROTEÍNAS

Para el establecimiento de la homología se consultará la base de datos NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) para hacer una lista de las proteínas de *M. smegmatis* equivalente a un rango que cubra las proteínas resultantes del marcaje con los sueros positivos a tuberculosis en las pruebas de Western Blot. A partir de las secuencias que se obtengan, las proteínas y su grado de homología mediante el uso del Software en línea BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) que funciona con las bases de datos NCBI.

RESULTADOS Y DISCUSION

Existen estudios donde *M. smegmatis* expresa la proteína en medio Sauton en membrana, pero en 7H9 no, sin embargo, en condiciones de limitación de nutrientes específicamente el fósforo si expresa el gen *esat-6* (López *et al.*, 2016). El presente trabajo se encuentra en la fase de estandarización, se han realizado algunas pruebas y se ha encontrado reactividad cruzada de proteínas, hemos realizado pruebas con 2 sueros los cuales marcaron reacción positiva.

CONCLUSIONES

Existe un complejo de proteínas del sobrenadante expresadas en limitación de fósforo que son reconocidas por sueros de bovinos positivos a tuberculosis.

LITERATURA CITADA

Andersen AB, Ljungqvist L, Olsen M. 1990. Evidence that protein antigen b of *Mycobacterium tuberculosis* is involved in phosphate metabolism. *Journal of general microbiology*. 136(3):477-80. Epub 1990/03/01.

Brodin P, Rosenkrands I, Andersen P, Cole ST, Brosch R. 2004. ESAT-6 proteins: protective antigens and virulence factors? *Trends in microbiology* 12(11):500-8.

CENAPRECE, PROGRAMAS PREVENTIVOS DIRECCION DE MICOBACTERIOSIS, Mortalidad por Tuberculosis Todas Formas, Estados Unidos Mexicanos 1990-2015
<http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/micobacteriosis/descargas/pdf/13MortaTbTodas15.pdf>

De Leon J, Jiang G, Ma Y, Rubin E, Fortune S, Sun J. 2012. *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 exhibits a unique membrane-interacting activity that is not found in its ortholog from non-pathogenic *Mycobacterium smegmatis*. *The Journal of biological chemistry* 287(53):44184-91.

Derrick SC, Morris SL. 2007. The ESAT6 protein of *Mycobacterium tuberculosis* induces apoptosis of macrophages by activating caspase expression. *Cellular microbiology* 9(6):1547-55.

Falcone V, Collins F. 1997. Growth of recombinant *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra in mouse macrophages. *Clinical and experimental immunology* 109(1):80-3.

Ganguly N, Giang PH, Gupta C, Basu SK, Siddiqui I, Salunke DM. 2008 *Mycobacterium tuberculosis* secretory proteins CFP-10, ESAT-6 and the CFP10:ESAT6 complex inhibit lipopolysaccharide-induced NF-kappaB transactivation by downregulation of reactive oxidative species (ROS) production. *Immunology and cell biology* 86(1):98-106.

López Pérez Héctor M, Velarde Félix Sixto, Enriquez Verdugo, Idalia, Xicotencatl Palacios Rosa, Gaxiola Camacho Soila M. 2016 Adaptation of *Mycobacterium smegmatis* to nutrient depletion and its effect on *esat-6* expression. *Rev Mex Cienc Pecu* 7(1):127-139

Groat RG, Schultz JE, Zychlinsky E, Bockman A, Matin A. 1986 Starvation proteins in *Escherichia coli*: kinetics of synthesis and role in starvation survival. *Journal of bacteriology* 168(2):486-93.

Herbst A, Hemann MT, Tworkowski KA, Salghetti SE, Lowe SW, Tansey WP. 2005. A conserved element in *Myc* that negatively regulates its proapoptotic activity. *EMBO reports* 6(2):177-83. Epub 2005/01/29.

Li Q, Engelhardt JF. 2006. Interleukin-1beta induction of NFkappaB is partially regulated by H2O2-mediated activation of NFkappaB-inducing kinase. *The Journal of biological chemistry* 281(3):1495-505. Epub 2005/11/16.

MacGurn JA, Cox JS. 2007. A genetic screen for *Mycobacterium tuberculosis* mutants defective for phagosome maturation arrest identifies components of the ESX-1 secretion system. *Infection and immunity* 75(6):2668-78. Epub 2007/03/14.

Mehrotra P, Jamwal SV, Saquib N Md, Sinha N, Siddiqui Z, et al. (2014) Pathogenicity of *Mycobacterium tuberculosis* Is Expressed by Regulating Metabolic Thresholds of the Host Macrophage. *PLoS Pathog* 10(7): e1004265. doi: 10.1371/journal.ppat.1004265

OIE. (20 de 11 de 2019). *Tuberculosis Bovina*.

http://wahis2-devt.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.07_BOVINE_TB.pdf

OMS. (09 de 03 de 2015). Informe mundial sobre la tuberculosis 2014. Recuperado el 26 de 07 de 2015, de [www.who.int](http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_execABSTRACT_ABSTRACT_es.pdf?ua=1): http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr14_execABSTRACT_ABSTRACT_es.pdf?ua=1

OMS. (2019.)Tuberculosis datos y cifras. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>

Reyrat JM, Kahn D. 2001. *Mycobacterium smegmatis*: an absurd model for tuberculosis? *Trends in microbiology* 9(10):472-4. Epub 2001/10/13.

Roach SK, Schorey JS. 2002. Differential regulation of the mitogen-activated protein kinases by pathogenic and nonpathogenic mycobacteria. *Infection and immunity* 70(6):3040-52.

Siegele DA, Kolter R.1992 Life after log. *Journal of bacteriology* 174(2):345-8.

Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, Brosch R. 2012. Phagosomal rupture by *Mycobacterium tuberculosis* results in toxicity and host cell death. *PLoS pathogens* 8(2):e1002507. Epub 2012/02/10.

Van der Wel N, Hava D, Houben D, Fluitsma D, van Zon M, Pierson J. 2007. *M. tuberculosis* and *M. leprae* translocate from the phagolysosome to the cytosol in myeloid cells. *Cell* 129(7):1287-98.

Viñuelas-Bayón J, Asunción Vitoria Maria, Samper Sofía 2017. Diagnóstico rápido de la tuberculosis. Detección de mecanismos de resistencia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2017.01.015>

Yadav M, Roach SK, Schorey JS. 2004.Increased mitogen-activated protein kinase activity and TNF-alpha production associated with *Mycobacterium smegmatis*- but not *Mycobacterium avium*-infected macrophages requires prolonged stimulation of the calmodulin/calmodulin kinase and cyclic AMP/protein kinase A pathways. *J Immunol* 172(9):5588-97.

CICLO REPRODUCTIVO DE LA ALMEJA CHOCOLATA *Megapitaria squalida* EN UN REFUGIO PESQUERO DE BAHÍA ALTATA, SINALOA, MÉXICO

Lidian Sinahi Noriega Vidrio¹ Jorge Saúl Ramírez Pérez¹ Andrés Martín Góngora Gómez²
Manuel García Ulloa Gómez² Juan Francisco Arzola González¹ María Candelaria Valdez
Pineda¹

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa. l.noriegav.facimar@uas.edu.mx

²Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Departamento de Acuacultura. Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa

INTRODUCCIÓN

La información de la producción pesquera de pequeña escala o ribereña en México es escasa, los datos se registran en avisos de arribo, siendo los pescadores los encargados de reportar a la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA) sus valores de captura (Ramírez *et al.*, 2004; Salas *et al.*, 2007; Amezcua-Castro *et al.*, 2015). Este mismo procedimiento de registro se realiza para la pesquería de *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) una almeja venérida de las más importantes en cuanto a volúmenes de captura (Romo, 2010).

Las últimas estadísticas de producción en el Estado de Sinaloa para *M. squalida* en 2008 fue de alrededor de 53 toneladas, sin embargo, se registró un colapso en su producción en 2014, reportándose solamente 12 toneladas; Álvarez *et al.* (2017) señalan que la sobreexplotación pudiera ser una posible causa de este descenso.

En el caso específico del municipio de Navolato, y de acuerdo a la base de datos establecida por CONAPESCA (2016) con información de los años 2006-2014, los volúmenes de captura total anuales fueron de 184.16 toneladas desembarcadas para el 2006, y un total de 67.93 toneladas para el 2009, mientras que, en 2014, se registraron tan solo 3.35 toneladas de almeja.

Específicamente en Bahía Altata, se obtuvo un promedio anual de 41.22 Tn en 2009 y de tan solo 1.18 y 2.82 Tn en los años 2014 y 2017, respectivamente (CONAPESCA, 2018; Sepúlveda, 2018). Lo anterior sugiere también que este recurso pudiera estar sobreexplotado en dicho lugar, por lo que las autoridades pesqueras regionales, a través de ISAPESCA (Instituto Sinaloense de Acuacultura y Pesca), han solicitado e impulsado la realización de proyectos de investigación sobre diferentes aspectos biológicos de la especie a fin de ordenar su explotación de una manera sustentable.

Se menciona que el ciclo reproductivo de los bivalvos varía de acuerdo a la ubicación geográfica, según las condiciones ambientales particulares de cada lugar, principalmente la temperatura del agua y la disponibilidad de alimentos (Vázquez *et al.*, 2011; Álvarez *et al.*, 2017), y es determinado genéticamente con fuerte influencia del medio ambiente a través de la temperatura, intensidad y duración de la luz, estableciendo la época y éxito de reproducción (Baqueiro y Aldana, 2003), lo que ha motivado el estudio de tendencias en el comportamiento de las poblaciones y su biología reproductiva en diferentes regiones del país: en Bahía La Paz

por Singh *et al.* (1991), Bahía Concepción por Villalejo *et al.* (1996), Bahía Juncalito por Villalejo-Fuerte *et al.* (2000), Laguna Ojo De Liebre y Bahía Juncalito, B.C.S. por Quiñones-Arreola (2003), Laguna Ojo de Liebre por Arellano *et al.* (2006), Bahía de La Paz y Bahía Magdalena en B. C. S. por Romo-Piñera (2010) y Santa Rosalía por Yee-Duarte (2017). De los estudios realizados en las costas del estado de Sinaloa solo se destaca el trabajo de Álvarez *et al.* (2017) en Bahía Altata y otros con modalidad de tesis para obtener el grado de Licenciatura como el de Nieblas (2003) en Bahía Altata, Soberano (2015) en Bahía Navachiste y Hernández (2017) en Bahía Agiabampo, Ahome.

Para llevar a cabo la descripción del ciclo reproductivo, por medio del estudio del desarrollo gonadal, se requiere del uso de métodos cualitativos y cuantitativos, siendo la histología y la tinción de Hematoxilina-eosina, una técnica clásica necesaria para describir los eventos reproductivos relacionados con el desarrollo gametogénico, y las técnicas cualitativas como principales indicadores del índice gonádico y la talla media de los ovocitos (Barber y Blake, 1991).

Por lo tanto, el objetivo principal de este proyecto, es estudiar el ciclo reproductivo de la almeja chocolata *M. squalida* en un encierro del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México, durante 18 meses, para generar información que contribuya a proponer prácticas de manejo para su conservación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La estrategia reproductiva de *M. squalida* puede variar entre poblaciones dependiendo de su ubicación geográfica, las condiciones ambientales específicas de cada lugar; como la temperatura del agua y la disponibilidad de alimento presente en cada zona donde habitan (Baquero y Aldana, 2000; Vázquez *et al.*, 2011). Debido a esto y a la sobreexplotación que pudiera presentar el recurso (Álvarez, *et al.*, 2017) por su captura inmoderada durante todo el año sin una regulación pesquera adecuada (Sotelo, 2014) es que se necesita conocer la relación que hay entre las fases del desarrollo gonádico y el crecimiento, como la influencia de los parámetros ambientales sobre los mismos, con el fin de ordenar su explotación de una manera sustentable para asegurar su conservación.

HIPÓTESIS

La almeja chocolata *M. squalida* del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México presenta dos periodos reproductivos y la talla de primera madurez se presenta después de los cinco meses de siembra en organismos de talla mayor a 4 cm de longitud.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de los parámetros ambientales en el ciclo reproductivo y crecimiento de la almeja chocolata *M. squalida* en un encierro del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México, durante 18 meses.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el ciclo reproductivo (estadios gonadales, índice de condición, número y diámetro de ovocitos, proporción sexual y talla de primera madurez) de la almeja chocolata *M. squalida* en

un encierro del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México, durante 18 meses de muestreo.

Estimar la talla (longitud, largo, ancho de la concha y peso corporal total) de la almeja chocolate *M. squalida* en un encierro del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México, durante 18 meses de muestreo.

Monitorear los parámetros ambientales (Temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, clorofila *a* (Cl-*a*), materia orgánica particulada (MOP) y sólidos suspendidos totales (SST) en un encierro del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México, durante 18 meses de muestreo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

La recolecta de los organismos se efectuó en Bahía Altata (Municipio de Navolato), localizada en la porción central del estado de Sinaloa entre los 24° 20' y 24° 35' de latitud N, y los 107° 20' y 107° 55' de longitud O.

Muestreo

Los muestreos se efectuaron en la zona intermareal comprendida dentro de un encierro del refugio pesquero de Bahía Altata, Sinaloa, México, mediante buceo libre. Se recolectaron 25 organismos mensualmente durante 18 meses de muestreo (junio 2015 – noviembre 2016).

Parámetros ambientales

Los parámetros ambientales se tomaron mensualmente *in situ* de acuerdo a lo reportado por (Gutiérrez-Sepúlveda, 2015). Para la determinación de clorofila *a*, sólidos suspendidos totales y materia orgánica particulada, se tomó la muestra de agua con un nucleador y se siguieron las técnicas propuestas por APHA (1995) para la determinación de SST y MOP, mientras que la extracción de Cl-*a* se realizó de acuerdo a Strickland y Parsons (1972) aplicando las ecuaciones de Jeffrey y Humphrey (1975) para obtener su concentración.

Estructura de tallas

Para determinar mensualmente la longitud, largo y ancho de la concha, se realizaron biometrías de 25 almejas por mes con una regla Vernier digital y para la obtención del peso se utilizó una balanza granataria. Después se calculará la proporción de organismos maduros por intervalo de talla y los datos se ajustarán en un modelo logístico de acuerdo a lo mencionado por Soberano (2015).

Determinación del ciclo reproductivo

El análisis cualitativo y cuantitativo de los ovocitos, la proporción de sexos y talla de primera madurez, se estimó de acuerdo a lo mencionado por Álvarez (2015), y el índice de condición fisiológica (ICF) se obtuvo conforme a Chávez-Villalba (2008).

Análisis estadísticos

Para evaluar la proporción sexual (1:1) mensual y total de *M. squalida*, se utilizó una prueba *t*-student. Adicionalmente, se aplicaron pruebas *t*-student para establecer si existen diferencias entre los valores del IDG entre machos y hembras. Se realizarán análisis de varianza

(ANDEVA) de una vía al índice de condición fisiológica, diámetro de los ovocitos e índice gonádico.

Se aplicarán análisis de correlación para establecer la relación entre la actividad reproductiva (diámetro promedio de ovocitos) y las variables ambientales (salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, pH, SST, MOP y Clorofila-a). Todos los análisis estadísticos se realizarán con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

Descripción histológica de las fases de desarrollo gonádico

La observación microscópica del tejido teñido de *M. squalida* mostró cinco fases de desarrollo gonádico, la presencia de células sexuales con diferentes estadios de desarrollo en un mismo individuo y se evidenció que presenta desove de tipo parcial y desarrollo gonádico sincrónico entre hembras y machos.

Indiferenciado. Se caracterizó por la ausencia de gametos y presenta acinos o folículos vacíos, en esta fase no se observa actividad sexual. El tejido conjuntivo ocupa más del 50% de la gónada (Fig. 1). Esta fase fue identificada en ocho meses de los 18 analizados, presentando una frecuencia del 100% en los meses de agosto y septiembre 2015. Cabe mencionar que los organismos que presentaron esta fase gonádica en los meses de agosto y septiembre se consideraron como organismos no reclutados a la reproducción, ya que se presentaron en tallas pequeñas (<13.46 mm de longitud), por lo que no se consideraron para la descripción del ciclo reproductivo.

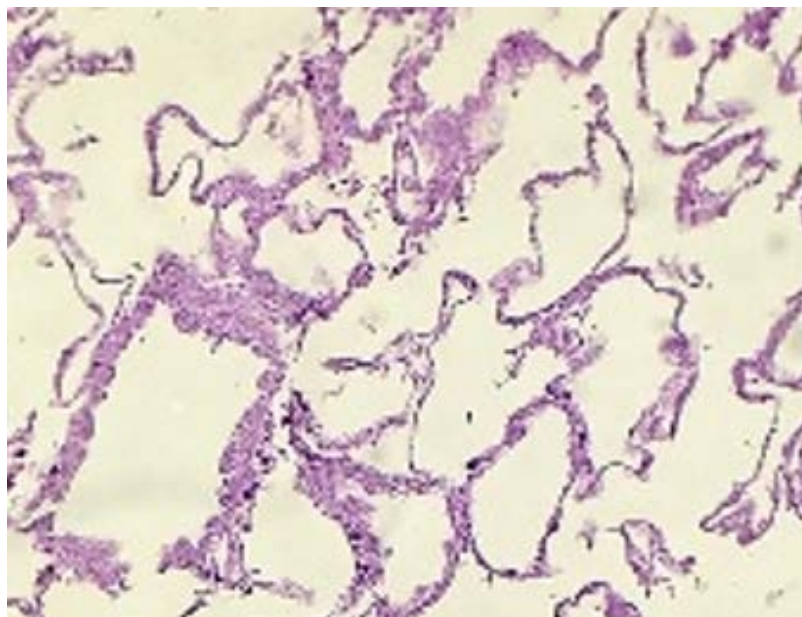


Figura 1.- Microfotografías (10X) de la gónada de *M. squalida* en fase de indiferenciado.

En hembras:

Desarrollo. Esta fase es reconocida por la presencia de tejido conjuntivo o conectivo entre los folículos en los cuales se encuentran las células reproductoras en diferente grado de desarrollo. Los gametos se encuentran adheridos o unidos a la pared del folículo (Fig. 2 A).

Madurez. El área de los folículos se encuentra mayormente cubierta por óvulos maduros, los cuales, adquirieron forma irregular y se encuentran llenos de vitelo, mostrando un núcleo y nucléolo bien diferenciados (Fig. 2 B).

Desove. Las paredes de los folículos se encuentran fragmentadas o rotas debido a la expulsión de los óvulos dependiendo el avance en el que se encuentre el desove. Las células sexuales se encuentran fuera de su folículo correspondiente, mezcladas, exponiendo algunos espacios libres o con restos de las paredes foliculares (Fig. 2 C).

Posdesove. Dependiendo del avance en el que se encuentre, los folículos se pueden observar mayormente vacíos, parcialmente o totalmente fragmentados debido a la expulsión de los gametos al exterior del organismo. Así como células sexuales siendo fagocitado o en reabsorción (Fig. 2 D).

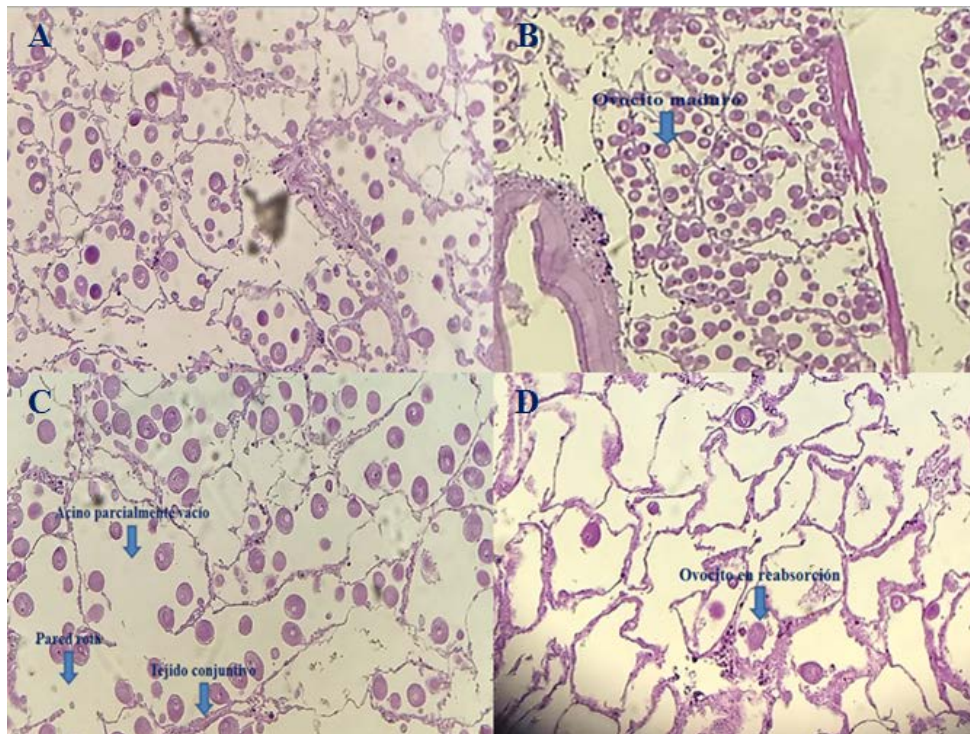


Figura 2.- Microfotografías (10X) de gónada femenina de *M. squalida*. A) Fase de desarrollo B) Fase de madurez C) Fase de desove D) Fase de posdesove.

Machos:

Desarrollo. Más del 50% de los individuos expusieron folículos o acinos llenos de células sexuales “espermatogonias”; espermatocitos y espermatozoides en mínima cantidad. Dependiendo del avance de esta fase; moderada o gran cantidad de tejido conectivo (Fig. 3 A).

Madurez. Los espermatozoides se localizan al centro de los folículos generando así líneas verticales, radiales, o en forma de zigzag creadas por una gran cantidad de pequeños espacios vacíos a simple vista. Las capas de espermatocitos y espermatogonias se encuentran en la periferia de los acinos y en menor cantidad. No se observa tejido conjuntivo ni espacios vacíos entre los acinos (Fig. 3 B).

Desove. Presencia de túbulos espermáticos y folículos en disminución, debido a la expulsión de los espermatozoides. Las capas de espermatogonias son poco evidente y tejido conectivo ausente (Fig. 3 C).

Posdesove. Presenta mayormente tejido conectivo y pequeñas cantidades o restos de espermatozoides siendo fagocitados o reabsorbidos, así como folículos disminuidos hasta un 50-70% (Fig. 3 D).

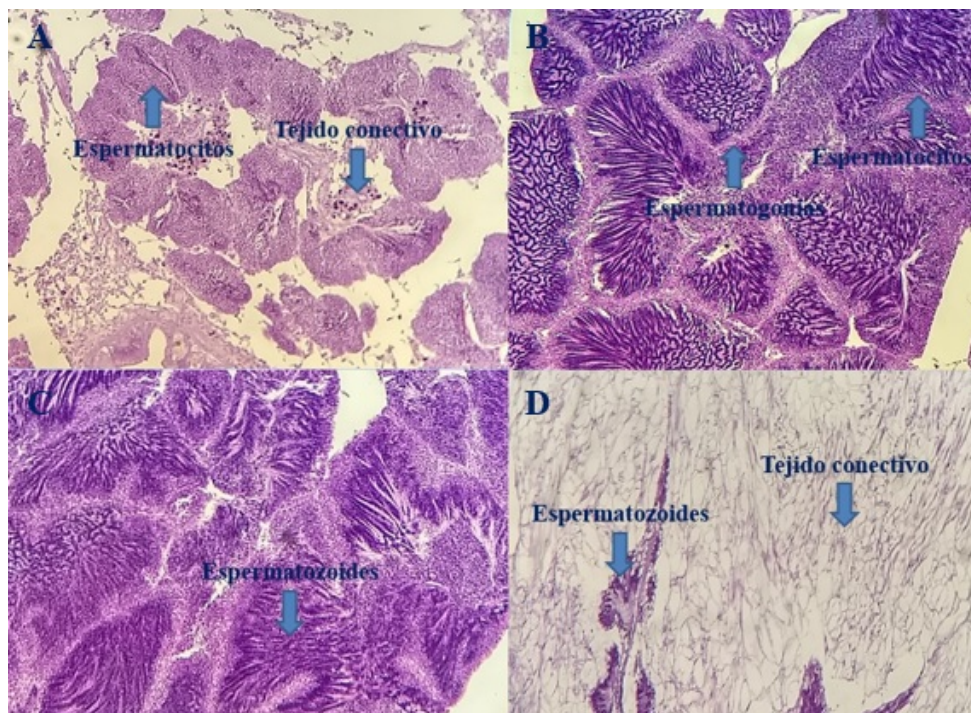


Figura 3.- Microfotografías (10X) de gónada masculina de *M. squalida*. A) Fase de desarrollo B) Fase de madurez C) Fase de desove D) Fase de posdesove

Proporción de sexos

Se analizaron un total de 317 almejas. Se observó un total de 44% hembras, 39% machos y 17% no reclutados a reproducción (indiferenciados). La prueba *t*-student para comparar la media mensual entre hembras y machos arrojó un valor de $t=1.63524$ y $P = 0.114049$ con una confiabilidad de 95%, lo que quiere decir; que no existen diferencias significativas de la proporción 1:1 (H:M) en la población de Bahía Altata, Sinaloa.

Época de reproducción

La población de *M. squalida* en Bahía Altata, Sinaloa, México presentó actividad reproductiva durante 14 meses; iniciando el mes de octubre 2015 hasta el mes de noviembre 2016,

mostrando tres periodos principales de desove en enero (55%), mayo (65%) y junio (65%) del año 2016.

Índice de desarrollo gonádico

El índice de desarrollo gonádico no presentó diferencias significativas entre las medias de machos y hembras ($t = -0.847416$, $P = 0.403473$), y presentó una relación con la frecuencia de las distintas fases de desarrollo gonádico encontrando el valor más bajo en agosto y septiembre (0.00 hembras y 0.00 machos), lo cual, coincide con los meses que presentó la mayor cantidad de organismos en la fase de indiferenciado; se registró el valor más alto en el mes de mayo (18.0 hembras) y junio (18.0 machos) coincidiendo con los meses de desove.

Parámetros fisicoquímicos

El promedio mensual de los parámetros fisicoquímicos en el sitio de recolecta se muestran en la Tabla 1.

Meses	S (‰)	°C	O ₂ (mg/L)	pH	Prof. (m)	Transp. (m)
jun-15	34.5	30.2	6.05	7.84	1.2	1.2
jul-15	35.0	31.8	5.93	7.83	1.4	1.4
ago-15	35.0	31.4	5.35	7.45	1.3	1.3
sep-15	30.0	32.5	5.33	7.64	1.8	1.8
oct-15	31.0	28.4	5.82	7.51	1.6	1.6
nov-15	29.8	28.2	6.95	7.67	0.9	0.9
dic-15	35.0	19.8	6.59	7.32	1.3	1.3
ene-16	35.0	20.0	6.97	7.38	1	1
feb-16	35.0	20.3	9.56	7.35	0.7	0.7
mar-16	35.0	25.2	5.76	7.32	1	1
abr-16	35.0	27.5	5.35	7.26	0.5	0.5
may-16	33.5	29.5	5.10	7.47	0.9	0.9
jun-16	35.0	29.8	4.33	7.63	1.1	1.1
jul-16	35.0	32.5	3.07	7.24	0.9	0.9
ago-16	36.0	32.0	3.50	7.50	0.7	0.9
sep-16	36.0	31.5	3.27	7.30	0.7	1
oct-16	34.0	30.7	4.63	7.21	0	0
nov-16	35.0	23.6	4.99	7.40	1	1

Tabla 1. Promedio mensual de los parámetros fisicoquímicos en Bahía Altata, Sinaloa, México

DISCUSIÓN

El ciclo reproductivo inició cinco meses después de la fijación de los organismos lo que difiere a lo mencionado por Álvarez (2015) quien reportó el inicio de la actividad reproductiva de la misma especie y en el mismo sitio a los nueve meses después de la siembra.

La proporción sexual de *M. squalida* para Altata, Navolato fue de 1.14:1, lo cual concuerda con lo reportado por Niebla (2003), Álvarez *et al.* (2017) y Soberano (2015) para la Bahía de Altata, Navolato, y Bahía Navachiste, en Sinaloa, respectivamente. Por otra parte, se han presentado

diferencias significativas en la proporción sexual 1:1 (H:M) de *M. squalida* en Bahía la Paz y Bahía Magdalena, donde se registró el 21.8 % y 15.98 % de hermafroditas (Romo, 2010).

Los meses con mayor porcentaje en desove fueron enero, mayo y junio del 2016, siendo similares a los meses de octubre 2013, febrero y junio 2014 reportados por Álvarez (2015), mismos que son similares a los reportados por Niebla (2003) para el mismo sitio.

El índice de desarrollo gonádico en menor valor fue durante los meses de agosto y septiembre (0.0) los cuales coinciden con los meses que presentan la mayor frecuencia de organismos en fase de indiferenciado, mientras que los meses donde se presenta el mayor valor (18.0) o un incremento bien definido, coincide con los meses que presentan la mayor frecuencia de organismos en fase de desove.

CONCLUSIÓN

El inicio de la gametogénesis se presentó a los 5 meses de cultivo.

La gónada de almeja chocolate *Megapitaria squalida* presentó un desarrollo gonádico asincrónico.

La almeja chocolate *M. squalida* muestreada en Bahía Altata, Navolato, Sinaloa, presentó una fase de indiferenciado en los meses de agosto y septiembre 2015 cuando los organismos presentan tallas de juveniles (0.5 - 5 cm).

Se encontró una proporción sexual H:M de 1.14:1.

La longitud promedio final fue de 59.68 ± 3.13 mm en 18 meses de recolecta.

El peso promedio final fue de 52.65 ± 9.27 g en 18 meses de recolecta.

LITERATURA CITADA

Álvarez D, E. 2015. Características fisiológicas de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en Altata, Navolato, Sinaloa: Factores metabólicos en cultivo y factores reproductivos en una población silvestre. (Maestría, no publicada). Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Sinaloa.

Álvarez, D. E., Santamaría, M. A., García, U. M., y Góngora, G. A. M. 2017. Reproduction of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) in the Southeast Gulf of California, Mexico. En *Revista de Biología Tropical*. 65 (3): 881-889. doi: 10.15517/rbt.v65i3.26371

Amezcuca-Castro S., Ramírez-Rodríguez M., Medina-Gómez S.P. y J.L. Gutiérrez-González. 2015. Tendencias de producción de almeja chocolate *Megapitaria squalida* en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur, México. En *Ciencia Pesquera*. 23(2): 3-10.

APHA. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 Edition. American Public Health Association. Washington, D.C. Multiple-Tube Fermentation technique for members of the groups. CAP 9221.

- Arellano-Martínez, M., Quiñones-Arreola, M.F. Ceballos-Vázquez, B.P. y Villalejo-Fuerte, M. 2006. Reproductive pattern of the squalid callista *Megapitaria squalida* from Northwestern Mexico. *J. Shellfish Res.* 25: 849-855.
- Baqueiro, E. y Aldana, D. 2003. Patrones en la biología poblacional de moluscos de importancia comercial en México. En *Biología tropical*. 51: 97-107.
- Barber, B. J. y N. J. Blake. 1991. Reproductive physiology. Pp. 377-428. En: S.E. Shumway (ed.). *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, Elsevier Science, New York.
- Chávez-Villalba J., Ibarra-Hernández A., López-Tapia M. y J. Mazón-Suástegui. 2008. Prospective culture of the Cortez oyster *Crassostrea corteziensis* from northwestern Mexico: Growth, gametogenic activity, and condition index. *Journal of Shellfish Research*. 27(4):711-720. DOI: [10.2983/0730-8000\(2008\)27](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2008)27).
- CONAPESCA. 2016. Estadística Pesquera y Acuícola de México. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. 28 de agosto de 2016. http://www.conapesca.gob.mx/wb/cona/informacion_estadistica_por_especie_y_entidad
- CONAPESCA. 2018a. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México, 253 p.
- Gutiérrez Sepúlveda, M. M. 2015. Crecimiento y supervivencia del ostión japonés *Crassostrea gigas* diploides y triploides cultivados en Ensenada La Tonina, Navolato, Sinaloa. (Licenciatura, no publicada). Universidad de Occidente. Guasave.
- Hernández-Sepúlveda, J.L. 2017. Ciclo gametogénico de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* en Bahía Agiabampo, Ahome, Sinaloa. (Licenciatura, no publicada). Universidad de Occidente Campus Guasave, Sinaloa.
- Humason, G. L. 1979. *Animal tissue techniques*. San Francisco and London: W. H. Freeman and Company.
- Jeffrey, S.W. y G.F. Humphrey. 1975. New spectrophotometric equation for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂, *Biochem. Physiol. Pflanz.*, 167:194-204.
- Niebla R, S. J. 2003. Análisis de la reproducción de almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835), en la Bahía de Altata, Sinaloa: bases para su cultivo. (Maestría, no publicada). Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Hermosillo, Sonora.
- Quiñones-Arreola, M. 2003. Comparación del patrón reproductivo de *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en la Laguna Ojo de Liebre, Óceano Pacífico y en Bahía Juncalito, Golfo de California, B.C.S., México. (Tesis Maestría). Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional, La Paz, B.C.S., México, 63 p.
- Romo P, A. K., Ceballos-Vázquez, B. P., García-Domínguez, F. y Arellano-Martínez, M. 2009. Unusual high frequency of hermaphroditism in the gonochoric bivalve *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Veneridae). *Journal of Shellfish Research*, Vol. 28, No. 4, 785–789

Romo Piñera A. K. 2010. Estrategia reproductiva de *Megapitaria squalida* (sowerby, 1835) en dos zonas de Baja California Sur, México. (Doctorado, no publicada). Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, Baja california sur.

Salas, S., Chuenpagdee, R., Seijo, J., y Charles, A. 2007. Challenges in the assessment and management of small-scale fisheries in Latin America and the Caribbean. *Fisheries Research* 87: 5-16.

Sepúlveda, C. H. 2018. Contenido de metales pesados (cobre, cromo, cadmio, níquel, plomo, arsénico, zinc y mercurio) en la almeja chocolate (*Megapitaria squalida*) de Bahía Altata, Sinaloa, y el riesgo potencial para la salud humana por su consumo. (Maestría, no publicada). Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Sinaloa.

Singh, C. J., Vélez, B. J., y Fajardo, L. M. 1991. Estudio poblacional de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en Punta Coyote, Bahía de la Paz B.C.S., México. En *Ciencia Pesquera*. 8: 1-22.

Soberano P, I. M. 2015. Ciclo reproductivo de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) en Bahía Navachiste, Sinaloa. (Licenciatura, no publicada). Facultad de Ciencias del Mar. Mazatlán.

Strickland, J. D. y Parsons, T. R. 1972. A practical handbook for the Seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada. Ottawa. 310 p.

Vázquez, H. M., Manzano, S. M., y Ortega, R. A. 2011. Relación entre las capturas de *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) y la temperatura superficial del mar en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. En *Revista de Biología Tropical* 59(1): 151-157.

Villalejo, F. M., y V. B Ceballos. 1996. Variación de los índices de condición general, gonádico y de rendimiento muscular en *Argopecten circularis* (Bivalvia: Pectinidae). *Revista Biología Tropical*. 44(2):591-594.

Villalejo-Fuerte, M., Arellano-Martínez, M., Ceballos-Vázquez, B.P., García-Domínguez, F. 2000. Ciclo reproductivo de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae) en Bahía Juncalito, Golfo de California, México. *Hidrobiológica*. 10 (2): 165–168.

Yee D, J. A. 2017. Salud reproductiva de la almeja chocolate *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Mollusca: bivalvia) en el puerto minero de Santa Rosalía, BCS, México. (Doctorado). Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

**TOLERANCIA A LA SALINIDAD EN POBLACIONES SILVESTRES DE CHILE (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) DEL NOROESTE DE MÉXICO José Manuel Osuna Rodríguez
RESISTANCE TO SALINITY IN WILD PEPPER (*Capsicum annuum* L.) FROM NORTHWEST OF MEXICO**

José Manuel Osuna Rodríguez¹; Sergio Hernández Verdugo¹; Saúl Parra Terraza¹; Antonio Pacheco Olvera¹; Joel Pineda Pineda².

Posgrado en Ciencias Agropecuarias.¹Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agronomía. manuelmx123@gmail.com. ²Universidad Autónoma Chapingo. Instituto de Horticultura.

Resumen

Usando 6 genotipos (Mazocahui, Presa oviachic, Yecorato, Lo de vega, Cosala y Roble) de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), se estableció un experimento con el objetivo de determinar el efecto de tres niveles de NaCl (0, 25 y 50 meq L⁻¹) en 14 características: área foliar, grosor de hoja, SPAD, índice estomático, densidad estomática, estomas por planta, contenido relativo de agua en hoja, altura de planta, diámetro de tallo, peso seco total, peso seco de raíz, peso seco de tallo, peso seco de hojas y masa foliar por área. Esta investigación se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero. Hubo efecto altamente significativo en 13 características en los tratamientos y en las 14 a nivel genotipos de las variables en estudio. Mazocahui y Cosalá resultaron más afectas cuando las plantas se sometieron a 50 meq L⁻¹ de NaCl, mientras que Presa oviachic mostro mas tolerancia a los niveles 25 y 50 meq L⁻¹ de NaCl. Los resultados en este estudio, indican que las poblaciones sometidas a un stress por sales, tienen respuesta diferente entre ellas, lo cual es bueno en la búsqueda de tolerancia al exceso de sales.

Palabras clave: Variación morfológica, sodio, chile chiltepín.

ABSTRACT

Using 6 genotypes (Mazocahui, Presa oviachic, Yecorato, Lo de vega, Cosala and Roble) of wild chile (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*), an experiment was established with the objective of determining the effect of three NaCl levels (0, 25 and 50 meq L⁻¹) in 14 characteristics: leaf area, leaf thickness, SPAD, stomatal index, stomatal density, stomata per plant, relative water content in leaf, plant height, stem diameter, total dry weight, weight root dry, dry weight of stem, dry weight of leaves and foliar mass by area. This research was carried out under greenhouse conditions. There was a highly significant effect in 13 characteristics in the treatments and in the 14 genotypes of the variables under study. Mazocahui and Cosalá were more affected when plants were subjected to 50 meq L⁻¹ of NaCl, while Presa oviachic showed more tolerance at levels 25 and 50 meq L⁻¹ of NaCl. The results in this study indicate that populations subjected to salt stress have a different response among them, which is good in the search for tolerance to excess salts.

Key words: Morphological variation, sodium, chiltepín pepper.

INTRODUCCIÓN.

La salinidad se refiere a la concentración de sales solubles en el perfil del suelo y su efecto se refleja en el rendimiento y calidad de los cultivos, aspectos que repercuten en la producción (INEGI, 2015). La situación más frecuente es la salinidad por NaCl (cloruro de sodio).

A nivel mundial la creciente escasez de agua y tierra cultivable para apoyar las necesidades mundiales de alimentos es un problema crítico, ya que gran parte de los alimentos del mundo se producen en tierras de riego, pero alrededor de una décima parte de la superficie irrigada del planeta presenta problemas de sales, lo que se ha convertido en un serio peligro para la seguridad alimentaria (FAO, 2002).

México no es ajeno a este problema, los suelos agrícolas afectados por sales se localizan principalmente en los distritos de riego del norte del país. En la región Noroeste de 2,724,445 ha bajo riego, el 20% corresponden a suelos con problemas de sales. En la Sinaloa de 1,061,233 ha, el 17.1% (18,165 ha) presentan este problema, mientras que en Sonora se reportan 11,854 ha que representa el 13%. Sin embargo, la actividad agrícola en tales ambientes puede ser potencialmente planeada con el establecimientos de cultivos con alta tolerancia al estrés salino (Semarnat, 2002).

Los efectos que el estrés salino causa en las plantas cultivadas, ha sido reportado en trabajos de investigación. Ghazi y Al-Karani (2000), señalan menor tamaño en raíces y parte aérea, así como menor peso seco de éstas; reducción del 60% al 95% en rendimiento (Drew *et al.*, 1990; Chartzoulakis and Klapaki, (2000) y desordenes nutricionales como bajos niveles de K⁺ en hojas y altos de Na⁺ (Ghazi y Al-Karani, 2000). También se modifica el color de las hojas, la tasa de madurez en frutos y el cociente entre la biomasa aérea y la biomasa de la raíz (Casierra-Posada and García, 2005). Por otra parte cuando se ha reportado tolerancia a salinidad en plantas de tomate, se asocia con una baja translocación de Na⁺ y mayor acumulación de K⁺ en hojas (Ghazi y Al-Karani, 2000). Para determinar el impacto de salinidad en las plantas Ziaf *et al.* (2009), sugieren que el contenido relativo de agua en hojas de chile (RLWC, por sus siglas en ingles), el índice de salinidad, así como el índice de área foliar específica, son métodos que ayudaron a concluir que una población de chile criollo de Pakistan "Tata Puri" es relativamente tolerante a la salinidad.

Mientras que los cultivos modernos, son poco tolerantes a las sales, sus parientes silvestres han sido reportadas como tolerantes. Rao *et al.* (2013) realizaron un screening de 94 genotipos silvestres de *Solanum pimpinellifolium* (pariente silvestre más cercano a *Solanum lycopersicum*) y reportan 14 genotipos que sobrevivieron a una concentración de 200 mM de NaCl. En otro estudio, Aktas *et al.* (2006) estudiaron 102 genotipos de *Capsicum annuum*, en donde dos de ellos, presentaron tolerancia a 150 mM de NaCl.

El chile (*Capsicum annuum*) es una especie que se cultiva ampliamente en todo el mundo y se considera que fue domesticada en México (Pickergill, 1991). A ella pertenecen los tipos de chiles conocidos como 'Chiltepines', 'Cola de rata', 'Cascabel', 'Cora', 'Guajillo', 'Serrano', 'Anaheim', 'Morrón', entre otros (Hernández-Verdugo, 1999). Esta especie presenta gran

variación en tamaño, color y forma de los frutos. La variación genética es algo importante en poblaciones silvestres de *C. annuum*, parientes de las plantas cultivadas. La variabilidad entre poblaciones de *C. annuum* silvestre que se distribuyen ampliamente por todo el territorio nacional, constituyen un importante reservorio de genes que pueden resolver problemas en la agricultura, por ejemplo, proporcionando resistencia a geminivirus (Anaya-López *et al.*, 2003), disponibilidad de luz (Hernández-Verdugo *et al.*, 2015), tolerancia a sales (Aktas *et al.*, 2006).

En condiciones naturales, las poblaciones de *C. annuum* silvestre habitan sitios que difieren en sus niveles de Na⁺ en el suelo. Sin embargo, se desconoce la susceptibilidad o tolerancia de poblaciones de chile silvestre del noroeste de México a niveles elevados de Na⁺.

HIPÓTESIS

Las poblaciones silvestres *Capsicum annuum* L. de México, presentan diferentes niveles de tolerancia a la salinidad.

Objetivo general

Evaluar la respuesta de poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* L. del noroeste de México, en tres niveles de salinidad.

Objetivo particular

Evaluar caracteres morfológicos en chiles silvestres *Capsicum annuum* L. bajo tres niveles de salinidad (NaCl al 0, 25 y 50 meq L⁻¹).

MATERIALES Y MÉTODOS

La especie. *Capsicum annuum* es la especie de chile de mayor importancia económica. Sus parientes silvestres (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickersgill) (Heiser y Pickersgill, 1975) conocidos por el nombre común de "chiltepín", se distribuye desde el sur de Estado Unidos hasta las regiones de baja altitud de Perú y norte de norte de Argentina (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Carrizo *et al.*, 2016). Se localizan fundamentalmente en la selva baja caducifolia, a orillas de caminos, huertos, potreros y bajo la vegetación remanente de los campos de cultivo. Sus plantas son perenes, herbáceas o trepadoras que pueden alcanzar 5 m de altura (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012) y se reproducen sólo por semilla; tienen frutos pequeños, rojos y pungentes que son consumidos y dispersados por las aves (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999). En el noroeste de México, esta especie florece en los meses de julio y agosto, y sus frutos maduran en octubre y noviembre.

Material vegetal y sitios de colecta. Se colectaron frutos maduros de 4 a 20 plantas de seis poblaciones silvestres de chile durante los meses de octubre y noviembre de 2015. Cada planta en cada población se considera una familia. Los datos geográficos, climáticos y suelo de los sitios de colecta se reportan en el cuadro 1. La concentración de sodio en los sitios de colecta de acuerdo con Qadir y Schubert (2002), no representa problemas para el crecimiento óptimo de las plantas. Sin embargo la precipitación promedio en el sitio Presa oviachic es la menor respecto a los otros sitios.

Diseño experimental. El diseño fue completamente al azar: Se conformaron tres tratamientos de cloruro de sodio (1-bajo, 0 meq L⁻¹; 2-medio, 25 meq L⁻¹; 3-alto, 50 meq L⁻¹) para seis poblaciones (1-MAZ, 2-POV, 3-YCT, 4-LDV, 5-CSL y 6-ROB) de 4 a 20 familias por población y tres individuos por familia. En total 675 plántulas se establecieron en el experimento. Los tres niveles de NaCl se diseñaron a partir de modificaciones de la solución universal de Steiner (1984), ya que esta solución no incluye Cl⁻ ni Na⁺ en su composición y consistieron en incrementar la concentración de Cl⁻ con relación a NO₃⁻, H₂PO₄⁻, SO₄²⁻, así como la concentración de Na⁺ con relación a K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺. En el Cuadro 3 se presenta la composición química de las soluciones nutritivas, una vez que fueron calculadas y ajustadas de la solución universal de Steiner (1984). El análisis de varianza de las variables consideradas se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 22 (IBM corp, 2013).

Características estimadas. Se realizó un muestreo final. Catorce variables fueron estimadas: (1) área foliar (AF) se midió en cm² con medidor de área foliar Li-Cor 3100C, Nebraska, USA. (2) grosor de hoja (GH) completamente hidratada en μm, con un micrómetro Draper sm-510, Japan. (3) clorofila (CLO) con un SPAD 502 chlorophyll meter konica-minolta. (4) índice estomático (IE). En cada planta se limpio una hoja completamente desarrollada, seleccionada de la parte superior y se obtuvieron impresiones epidérmicas; la técnica consistió en la aplicación de barniz para uñas transparente en un área pequeña (cerca de 2 cm²) de la parte media del en vez de la hoja. Después que el barniz se secó por 15 minutos, se colocó diurez para ser removida y montada en un portaobjetos. Con ayuda de un microscopio óptico (zeiss primo star) con un campo de observación de 400X y una cámara Axioncam ICcLi, acoplada a un software Axion Vision Documentation, se capturaron las imágenes digitales. Con el programa ImageJ 1.51j8 se conto del número de estomas y células epidérmicas observadas. Los valores obtenidos se usaron en la siguiente fórmula (Wilkinson, 1979): (número de estomas ÷ [número de estomas + número de células epidérmicas]) x 100. (5) densidad estomática (DE). Se dividió el número de estomas observados entre el área del campo visual del microscopio (320 x 240 μm²). El valor se multiplico por 100,000,000 para convertirlo a cm². Finalmente se divido entre 1,000 para reportarse en 1000/cm². (6) estomas por planta (EP). Multiplicando AF por DE. (7) Contenido relativo de agua en hoja (AH); se calculo siguiendo la siguiente formula (Yamasaki y Dillenburg, 1999): AH (%) = [(peso fresco de hojas-peso seco de hojas)/hojas frescas completamente túrgidas-peso seco de hojas] x 100. (8) altura de planta (AP); se midió en cm de la superficie del sustrato hasta la parte más alta del tallo principal. (9) diámetro de tallo (DT); medido en mm a nivel de superficie del sustrato. (10) peso seco total (PST), (11) peso seco de raíz (PSR), (12) peso seco de tallo (PST) y (13) peso seco de hojas (PSH); se reporta en g, se secaron a 60°-70°C por 72 h en una estufa. (14) masa foliar específica (MFE), en m²·g⁻¹, se dividió el área foliar entre la materia seca de las hojas por planta.

Cuadro 1. Nombre, estado de origen y estatus de cultivo de las poblaciones de *Capsicum. annuum* var. *glabriusculum* en estudio.

Nombre	Familias	Estado de origen	Estatus de cultivo
--------	----------	------------------	--------------------

1	Mazocahui	4	Sonora	silvestre
2	Presa oviachic	11	Sonora	silvestre
3	Yecorato	17	Sinaloa	silvestre
4	Lo de vega	7	Sinaloa	silvestre
5	Cosalá	16	Sinaloa	silvestre
6	Roble	20	Sinaloa	silvestre

Cuadro 2. Datos geográficos, climáticos y edáficos de seis poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* del noroeste de México.

Población	Latitud N	Longitud -W	T. Max (°C)	T. Min (°C)	T. Min (°C)	PP (m)	Insolación (W · m ²)	Suelo	CE (dS · m ⁻¹)	pH	Na ⁺	Cl ⁻
Mazocahui	29°31'	110°05'	44.7	21.3	-4.2	534	368	Arenoso franco	0.7	6.6	1.13	4.0
Presa Oviachic	27°49'	109°53'	45.2	24.7	-1.5	410	375	Franco arenoso	0.79	7.8	0.91	3.5
Yecorato	26°26'	108°12'	43.9	24.1	-1.0	818	377	Arenoso franco	0.94	6.8	1.4	1.1
Lo de Vega	26°11'	108°36'	42.5	23.6	-1.3	628	378	Franco arenoso	0.82	7.6	0.7	3.2
Cosalá	24°24'	106°36'	41.8	24.9	3.8	1098	383	Franco arenoso	0.91	7.5	0.39	4.0
El Roble	23°55'	106°53'	36.7	23.5	5.0	587	384	Franco	0.52	7.8	0.9	2.5

Cuadro 3. Niveles de salinidad y composición de las soluciones nutritivas.

Niveles de NaCl en meq L ⁻¹	Aniones (meq L ⁻¹)				Cationes (meq L ⁻¹)			
	N-NO ₃ ⁻	P-H ₂ PO ₄ ⁻	S-SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺
0 (bajo)	12	1	6.93	0.9	6.79	7.46	3.56	0.9
25 (medio)	12	1	6.93	25.0	6.79	7.64	3.56	25.0
50 (alto)	12	1	6.93	49.1	6.79	7.46	3.56	49.1

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características grosor de hoja y masa foliar por área aumentaron significativamente con el aumento de cloruro de sodio en el medio radical (Cuadro 4). La característica índice estomático permaneció estadísticamente igual en los tres tratamientos de cloruro de sodio, sin embargo numéricamente fue menor con forme se incrementaba este. Área foliar, SPAD, estomas por planta, altura de planta, índice estomático CRAH, peso seco total, raíz, tallo y hoja, así como diámetro de tallo se redujeron significativamente con forme se incrementaba el sodio (Cuadro 4).

La comparación de medias reveló que las poblaciones se diferenciaron significativamente para todas las características medidas (Cuadro 5). La población Cosalá y Mazocahui mostró los valores más bajos para la mayoría de las características. Estas poblaciones mostraron los valores promedio menores en área foliar, SPAD, estomas por planta, altura de planta, índice estomático, CRAH, peso seco total, raíz, tallo y hoja así como diámetro de tallo. La población Presa oviachic mostro mas tolerancia cuando se sometió a los mismos niveles de sodio en estas mimas características. Esta variación a los niveles de sodio concuerda con lo reportado Ziaf *et al.* (2009).

Cuadro 4. Medias (± 1 error estándar) para cada característica de seis poblaciones de *Capsicum annuum* silvestre creciendo en solución nutritiva completa conteniendo tres niveles de cloruro de sodio (bajo=0, medio=25 y alto=50 meq L⁻¹ de NaCl). N=225 en cada nivel de cloruro de sodio para todas las características. Letras diferentes en cada fila son significativamente diferente (Duncan; *P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).

Característica	Tratamiento			CV general	F
	Bajo (0 meq L ⁻¹ de NaCl)	Medio (25 meq L ⁻¹ de NaCl)	Alto (50 meq L ⁻¹ de NaCl)		
Área foliar (cm ²)	277a \pm 5.9	229b \pm 4.5	173c \pm 4.7	38.6	104.53** *
Grosor de hoja (mm)	0.208 \pm b 0.002	0.241 \pm a 0.003	0.245 \pm a 0.003	22.8	37.39***
SPAD (Verdor relativo en plantas)	41.8a \pm 0.418	40.3b \pm 0.297	35.1c \pm 0.428	16.4	77.79***
Estomas por planta (10 ⁵)	45.6a \pm 1.64	38.5b \pm 1.12	27.2c \pm 1.06	56.1	48.09***
Densidad estomática (1000/cm ²)	15.9a \pm 0.38 b	16.7a \pm 0.34	15.5b \pm 0.30	32.6	2.42 ^{ns}
Índice estomático (%)	19.9a \pm 0.27	19.8a \pm 0.25	19.3a \pm 0.26	20.1	1.44 ^{ns}
CRAH (contenido relativo de agua en hojas)	4.14a \pm 0.07	3.96a \pm 0.06	3.23b \pm 0.08	32	39.18***
Altura de planta (cm)	46.8a \pm 0.60	44.5b \pm 0.65	44.6b \pm 0.63	20.9	4.22*
Diámetro de tallo (mm)	4.02a \pm 0.03	3.87b \pm 0.03	3.48c \pm 0.03	15.4	61.24***
Peso seco total (g)	2.40a \pm 0.04	1.99b \pm 0.03	1.59c \pm 0.02	34	105.55** *
Peso seco de raíz (g)	0.504 \pm 0.01 a	0.406 \pm 0.00 b	0.278 \pm 0.00 c	42	155.81** *
Peso seco de tallos (g)	1.070 \pm 0.02 a	0.932 \pm 0.02 b	0.808 \pm 0.01 c	39.6	30.38***
Peso seco de hojas (g)	0.826 \pm 0.01 a	0.651 \pm 0.01 b	0.506 \pm 0.01 c	38.4	120.86** *
Masa foliar por área (m ² ·g ⁻¹)	30.3b \pm 0.44	29.0b \pm 0.41	32.2a \pm 0.59	24.7	5.70***

Cuadro 5. Medias (\pm error estándar) para las características medidas en seis poblaciones de *Capsicum annuum* silvestre. N= 36, 99, 153, 63, 144 y 180 en las poblaciones Mazocahui, Presa oviachic, Yecorato, Lo de vega, Cosalá y Roble respectivamente. En cada fila, medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes (Duncan; *P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).

Característica	Población					
	Mazocahui	Presa oviachic	Yecorato	Lo de vega	Cosalá	Roble
Área foliar (cm ²)	187d \pm 19.1	279a \pm 10.2	236b \pm 5.7	225b \pm 11.9	197cd \pm 6.9	222bc \pm 5.4
Grosor de hoja (mm)	0.27a \pm 0.01	0.22d \pm 0.00	0.22cd \pm 0.01	0.24bc \pm 0.01	0.24b \pm 0.00	0.23bcd \pm 0.00
SPAD	38b \pm 1.10	40a \pm 0.51	41a \pm 0.58	41a \pm 0.75	36c \pm 0.66	40a \pm 0.39
Estomas por planta (10 ⁵)	29.9b \pm 3.6	45.1a \pm 2.3	42.3a \pm 1.6	45.4a \pm 3.0	31.6b \pm 1.8	31.4b \pm 1.0
Densidad estomática (1000/cm ²)	15c \pm 0.60	16c \pm 0.49	18b \pm 0.44	20a \pm 0.81	15cd \pm 0.45	14d \pm 0.26
Índice estomático (%)	19bc \pm 0.6	20ab \pm 0.3	21a \pm 0.3	19c \pm 0.6	19c \pm 0.4	20ab \pm 0.3
CRAH	3.2c \pm 0.2	4.6a \pm 0.1	4.0b \pm 0.1	3.8 b \pm 0.2	3.1c \pm 0.1	3.8b \pm 0.1
Altura de planta (cm)	41b \pm 1.8	46a \pm 0.9	45a \pm 0.7	44a \pm 1.5	46a \pm 0.8	46a \pm 0.7
Diámetro de tallo (mm)	3.67cd \pm 0.11	4.19a \pm 0.05	3.87b \pm 0.04	3.83bc \pm 0.07	3.56d \pm 0.04	3.70bcd \pm 0.04
Peso seco total (g)	1.95dc \pm 0.18	2.45a \pm 0.07	2.04bc \pm 0.05	2.21b \pm 0.11	1.77d \pm 0.04	1.81d \pm 0.04
Peso seco de raíz (g)	0.44b \pm 0.04	0.50a \pm 0.02	0.39bcd \pm 0.01	0.42bc \pm 0.03	0.37cd \pm 0.01	0.34d \pm 0.01
Peso seco de tallos (g)	0.92bcd \pm 0.10	1.13a \pm 0.04	0.96bc \pm 0.03	1.01b \pm 0.06	0.86cd \pm 0.02	0.84d \pm 0.02
Peso seco de hojas (g)	0.60cd \pm 0.05	0.82a \pm 0.03	0.68b \pm 0.01	0.78a \pm 0.03	0.53d \pm 0.02	0.63bc \pm 0.02
Masa foliar por área (g·m ⁻²)	35b \pm 1.2	30c \pm 0.6	31c \pm 0.7	38a \pm 1.5	29c \pm 0.6	29c \pm 0.5

CONCLUSIONES

Los resultados en este estudio, indican que las poblaciones sometidas a un stress por sales, tienen respuesta diferente entre ellas, lo cual es bueno en la búsqueda de resistencia al exceso de sales.

LITERATURA CITADA

- Aktas H., Abak K. y Cakmak I. (2006) Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Sci. Hort.* 110:260–266.
- Alcántar G. G. y Sandoval V. M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Chapingo, México. 156 p.
- Anaya-López J. L., Torres-Pacheco I., González-Chavira M., Garzón-Tiznado J. A., Pons-Hernandez J. L., Guevara-Gonzalez R. G. y Hernandez-Verdugo S. 2003. Resistance to geminivirus mixed infections in Mexican wild peppers. *HortScience*, 38(2), 251-255.
- Bremner J. M. 1965. Total nitrogen. *In*: Black, C. A. (ed.). *Methods of soil analysis. (Part 2). (Agronomy 9)*. American Society of Agronomy. Madison, WI. USA. pp:1149-1178.
- Carrizo G. C., Barfuss M.H.J., Sehr E.M, Barboza G.E, Samuel R, Moscone E.A y Ehrendorfer F. 2016. Phylogenetic relationships, diversitfication and expansion of chilli peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Annals of Botany* 118: 35-51.
- Casierra-Posada F. y García N., 2005. Crecimiento y distribución de materia seca en cultivares de fresa (*Fragaria sp.*) bajo estrés salino. *Agronomía Colombiana* 23(1), 83-89.
- Chartzoulakis K. y Klapaki G. 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hort.* 86: 247-260.
- Chavira R. J. C. y Castellanos R. J. Z. 1987. Sales solubles. *In*: Aguilar, S. A.; Etchevers, J. D. y Castellanos, R. J. Z. (eds.). *Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo*. Publicación Especial Núm. 1. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. p:109-124.
- Drew M.C., Hole P.S. y Picchioni G.A.. 1990. Inhibition by NaCl of net CO₂ fixation and yield of cucumber. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 115: 472-477.
- FAO. 2002. Land and Plant Nutrition Management Service. www.fao.org (Consulta, julio 2015).
- Ghazi N. y Al-Karaki 2000. Growth, water use efficiency, and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* Vol. 23, Iss. 1.
- Hernández-Verdugo S., Dávila P. y Oyama K., 1999. "Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*". *Bol. Soc. Bot. Méx.*, 64: 65- 84.
- Hernández-Verdugo S., Dávila-Aranda A.P. y Oyama K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64:65-84.

Hernández-Verdugo S., González-Sánchez R. A., Porras F., Parra-Terraza, S. Valdez-Ortiz, A. Pacheco-Olvera A., y López-España, R. G. 2015. Plasticidad fenotípica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en respuesta a disponibilidad de luz. *Botanical Sciences*, 93(2).

Hernández-Verdugo S., Porras F., Pacheco-Olvera A., López-España R.G., Villarreal-Romero M., Parra-Terraza S. y Osuna E.T. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Polibotánica* 33: 175-191.

IBM Corp. 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp., Armonk, NY.

IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.

INEGI. 2015. Salinización de suelos en México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México DF. www.inegi.org.mx (Consulta, julio 2015).

Pickersgill B. 1991. "Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L". En: Tsuchiya T. y Gupta P.K. (Edrs.) *Chromosome engineering in plants: Genetics, breeding, evolution*. Part B. Elsevier. Amsterdam. pp: 139-160.

Qadir, Manzoor y Schubert, S. 2002. Degradation Processes and Nutrient Constraints in Sodic Soils. *Land Degradation & Development*. 13. 275 - 294. [10.1002/ldr.504](https://doi.org/10.1002/ldr.504).

Rao E.S., Kadirvel P., Symonds R.C. y Ebert A.W. 2013. Relationship between survival and yield related traits in *Solanum pimpinellifolium* under salt stress. *Euphytica* 190:215–228

Rodríguez H. y Rodríguez J. 2002. Métodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación. Editorial Trillas, S. A. de C. V. D. F., México. pp: 155-157.

Semarnat, 2002. Salinización de suelos en México. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. www.gob.mx/semarnat (Consulta, julio 2015).

Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. Sixth Int. Congr. on Soilless Culture. pp. 633-649. *In: proceeding 6th International Congress on Soilless Culture*. Wageningen, The Netherlands.

Ziaf K., Amjad M., Pervez M.A., Iqbal Q., Rajwana I.A. y Ayub M., 2009. Evaluation of different growth and physiological traits as indices of salt tolerance in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Pakistan J. Bot.*, 41: 1797–1809.

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE *Anaplasma ovis* EN OVINOS Y CAPRINOS DE CULIACÁN SINALOA

Cesar Noé Badilla Medina , ¹Idalia Enríquez Verdugo, ¹Soila Maribel Gaxiola Camacho, ²Efrén Díaz Aparicio.

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Microbiología.

cesarnbadilla@gmail.com

RESUMEN

Anaplasma ovis son microorganismos patógenos intraeritrocíticos obligados, pertenecen a la familia *Anaplasmataceae*, orden Rickettsial; es causante de la Anaplasmosis en ovinos, caprinos, rumiantes silvestres y humanos, son transmitidos biológicamente por garrapatas y mecánicamente por melófagos y piojos chupadores. El estudio y diagnóstico molecular de la Anaplasmosis en pequeños rumiantes se ha basado en la identificación y caracterización del gen *msp4* que ha proporcionado información filogenética y filogeográfica útil donde obtuvieron diferentes genotipos en las regiones del centro de Europa, el mediterráneo, en Asia y Estados Unidos de América. el objetivo de este trabajo es caracterizar *Anaplasma ovis* que infectan a los ovinos y caprinos de Sinaloa. Se obtuvieron muestras de sangre con anticoagulante y sin anticoagulante de la vena yugular de ovinos y caprinos en la región. Se infectarán experimentalmente ovinos y caprinos esplenectomizados, donde posteriormente se extraerá el ADN por la técnica de fenol-cloroformo y por centrifugación en columnas, se utilizaron dos pares de oligonucleótidos para la amplificación del gen *msp4* de *A. ovis* al cual se analizaron las secuencias y se caracterizaron. El material genético se encuentra extraído y estamos realizando PCR para la identificación de *Anaplasma ovis*.

ABSTRACT

Anaplasma ovis are obligate intraerythrocytic pathogens, belong to the family *Anaplasmataceae*, order Rickettsial; It is the cause of Anaplasmosis in sheep, goats, wild ruminants and humans, are transmitted biologically by ticks and mechanically by lupis and sucking lice. The study and molecular diagnosis of Anaplasmosis in small ruminants has been based on the identification and characterization of the *msp4* gene that has provided useful phylogenetic and phylogeographic information where they obtained different genotypes in the regions of Central Europe, the Mediterranean, Asia and the United States. from America. The objective of this work is to characterize *Anaplasma ovis* that infect the sheep and goats of Sinaloa. Blood samples were obtained with anticoagulant and without jugular vein anticoagulant from sheep and goats in the region. Splenectomized ovines and goats will be experimentally infected, where afterwards the DNA will be extracted by the phenol-chloroform technique and by centrifugation in columns, two pairs of oligonucleotides will be used for the amplification of the *msp4* gene of *A. ovis* to which the sequences were analyzed and They were characterized. The genetic material is extracted and we are carrying out PCR for the identification of *Anaplasma ovis*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, existe un creciente interés en bacterias del género *Anaplasma*, esto debido a la actividad de estas bacterias patógenas en animales de granja, y también, aunque en menor grado, en las personas (Rymaszewska y Grenda, 2008). Las especies de gran impacto en la salud animal son *Anaplasma marginale*, *A. ovis*, *A. centrale*, *A. bovis*, *A. platys* y *A. phagocytophilum* esta última con reportes de zoonosis. *A. marginale* y *A. ovis* son los principales patógenos intraeritrocíticos en los bovinos y ovinos, también son responsables de la enfermedad en las zonas tropicales y subtropicales (Liu *et al.*, 2012). *Anaplasma ovis* son microorganismos patógenos intracelulares obligados, pertenecen a la familia Anaplasmataceae, orden Rickettsial y es causante de la Anaplasmosis en pequeños rumiantes y rumiantes silvestres (Friedhoff, 1997). La infección es frecuentemente subclínica, sin embargo, la enfermedad se comporta más grave en las cabras que en las ovejas, particularmente en animales estresados o debilitados (de la Fuente *et al.*, 2007). Los pequeños rumiantes contraen una infección subclínica leve cuando se infectan naturalmente con *A. ovis*, pero la esplenectomía experimental demostró casos clínicos presentándose el 90% de los eritrocitos infectados en el pico de la bacteremia (Jansson, 2017). *A. ovis* infecta y se replica dentro de los eritrocitos que posteriormente son fagocitados en el bazo y la médula ósea. Las garrapatas participan como vectores biológicos de anaplasmosis esto se debe a una parte del ciclo de vida de las especies de *Anaplasma* se lleva a cabo dentro de la garrapata. La presencia de *Anaplasma* reportada en las garrapatas *Rhipicephalus microplus* en anaplasmosis de pequeños rumiantes en nuestro continente se vuelve en un potencial de riesgo en transmisión de especies de *Anaplasma* zoonóticas (García *et al.*, 2014) en nuestra región este género de garrapata es abundante (Gaxiola-Camacho *et al.*, 2009). Las garrapatas *Rhipicephalus sanguineus* en medio oriente recientemente se han identificado como vectores de *Anaplasma* en ovinos y la reportan como el género más dominante en esa región (Noaman, 2012). La transmisión se puede dar también de manera mecánica por insectos hematófagos como piojos y melófagos (Hornok *et al.*, 2010, Hornok *et al.*, 2011) o través de las herramientas de la vacunación, el tatuaje o la castración (Bazhad, 2011). Los pequeños rumiantes son participantes como reservorios de la enfermedad y esto es significativo en la propagación de la enfermedad. Las especies de *Anaplasma* poseen proteínas que participan en la interacción en hospederos vertebrados e invertebrados, como las mayoritarias de superficie de la membrana (MSPs) (de la Fuente *et al.*, 2005b). El gen *mSP4*, forma parte de la superfamilia de las MSPs, y es utilizado principalmente en la identificación molecular de *Anaplasma ovis* (de la Fuente *et al.*, 2005a). Las secuencias de los genes *mSP4* y sus proteínas son útiles para estudios filogenéticos en *A. marginale*, *A. ovis* y *A. phagocytophilum* (Liu *et al.*, 2012; de la Fuente *et al.*, 2006; Hornok *et al.*, 2007; Psaroulaki *et al.*, 2009). Sin embargo, la mayoría de los casos de infección por *Anaplasma ovis* confirmados mediante la amplificación del gen *mSP4* en ovejas y cabras por PCR se han descrito en las regiones mediterráneas del sur y en la parte central de Europa (Derdakova *et al.*, 2011). Además, la Anaplasmosis en pequeños rumiantes es estudiada poco en México, por lo que el objetivo de este trabajo es caracterizar *Anaplasma ovis* que infectan a los ovinos y caprinos de Sinaloa.

PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

La anaplasmosis en pequeños rumiantes es estudiada poco en México, Sin embargo, en la actualización del acuerdo al diario oficial de la federación, donde se dieron a conocer las enfermedades y plagas exóticas y endémicas de notificación obligatoria de los animales terrestres y acuáticos publicada en mayo 2016, se incluyó *Anaplasma ovis* en el grupo 3, constituido por aquellas enfermedades y plagas que se encuentran presentes en el territorio nacional y son consideradas como endémicas. Por ello se tiene la necesidad de implementar estudios de identificación, caracterización genética, desarrollo de la enfermedad y la identificación en sus diferentes estadios

HIPÓTESIS

Anaplasma ovis se presenta en pequeños rumiantes de Culiacán, y sus secuencias son homólogas a las secuencias descritas.

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar *Anaplasma ovis* que infecta a ovinos y caprinos de Culiacán, Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar rebaños ovinos y caprinos que presenten signología de Anaplasmosis.

Infectar experimentalmente ovinos y caprinos esplendectomizados

Caracterizar genéticamente *Anaplasma ovis* que infecta ovinos y caprinos de la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realiza en rebaños de ovinos y caprinos pertenecientes al estado de Sinaloa, las muestras se procesan en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicados en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México; en las coordenadas 24°48' latitud Norte y 107°23' longitud Oeste, con una altura de 60 msnm, temperatura media anual de 24.8°C, con 33.3 y 16.3°C como temperaturas máximas y mínimas promedio, y 44.5 y 1.5°C de temperatura máxima y mínimas extremas; con 144, 159 y 92 días despejados, medio nublados y nublados al año, respectivamente; precipitación pluvial promedio anual de 675mm, con lluvias en verano (julio a septiembre), el clima de la región es tropical seco (BWh y BSh) de acuerdo a la clasificación de Koeppen (INEGI, 2009). Se obtuvieron muestras de sangre completa y suero de ovinos y caprinos por punción de la vena yugular en tubos al vacío de 4 ml con anticoagulante EDTA y sin anticoagulante, se conservarán a 4°C hasta su procesamiento. Los animales con la inhibición de menos de 60% serán seleccionados para confirmación con PCR para confirmar la especie. El ADN se extrae por medio de la técnica fenol-cloroformo, utilizando 300 µl de sangre completa de ovino y caprino, se agregó amortiguador de lisis (TE: tris 100mM y EDTA 10mM), dodecilsulfato de sodio (SDS) al 20%, se incubó a 37°C con calor seco y a 56°C a calor húmedo por una h respectivamente. Se agregó fenol (1:1), se centrifugó por dos min a 12,000 RPM, se obtuvo el sobrenadante y se añadió cloroformo (1:1), se centrifugó por dos min a 12,000 RPM se obtuvo el sobrenadante y se agregó etanol, se congeló a -20°C. Se centrifugó por 20 min, a 12,000 RPM y se decantó. A la pastilla obtenida se le agregó 50 µl de agua inyectable estéril (Sambrook, *et al.*, 1989). El ADN se observó en un gel de agarosa al 1% teñido con gel red con luz ultravioleta. El material genético extraído forma parte de una mezcla de reacción para PCR

a 25 µl (Buffer 10X MgCl₂, dNTPs, H₂O inyectable estéril, Taq Polimerasa, oligonucleótidos y DNA), La reacción se llevó a cabo en un termociclador (BIORAD T100) para la amplificación del gen *msp4* de *A. ovis*, por 35 ciclos, la temperatura de desnaturalización se utilizó a 94°C por 30 s, la alineación a 60°C por 30 s y la extensión a 68°C por 30 s, con una extensión final de 70°C por 10 min. Con los oligonucleótidos: *msp43*: 5'-GGGAGCTCCTATGAATTACAGAGAATTGTTTAC-3' y *msp45*: 5'-CCGGATCCTTAGCTGAACAGGAATCTTGC-3' (de la Fuente *et al.*, 2006) donde se utilizó un control positivo donado por MC Vladimir López y Dr José de La Fuente investigadores de IREC en España. Además, se utilizaron un par de oligonucleótidos específicos para *A. ovis* el oligonucleotido directo AovisMSP4Fw (5'-TGAAGGGAGCGGGGTCATGGG-3') y el inverso AovisMSP4Rev (5'-GAGTAATTGCAGCCAGGGACTCT-3') (Torina *et al.*, 2012). Los productos de PCR obtenidos se revelaron en geles de agarosa al 1% teñido con Gel Red (Crisafuli *et al.*, 2015) y se visualizaron en un transluminador ultravioleta. Los productos de PCR se mandarán a secuenciar a la empresa MacroGen Corporation 1330 Piccard Dr. STE 205 Rockville, MD 20850 USA. El análisis *In Silico* se realizará al contar con la secuenciación y enseguida las secuencias obtenidas se comprobarán con el software Chromas lite v.2.1.1 y se compararán con los datos de secuencias disponibles en el GenBank, utilizando el BLASTn. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Se utilizará el software en línea Clustal W algorithm (programa de alineaciones múltiples de secuencias) (Thompson *et al.*, 1994).

RESULTADOS

Las bandas de amplificación de aproximadamente 850 pb observadas en luz ultravioleta, se puede comparar con los resultados descritos por de la Fuente y colaboradores en el 2006 y 2007, donde amplificaron el fragmento del gen *msp4* de *Anaplasma ovis* a 852pb, además secuenciaron y caracterizaron genéticamente las cepas de esta bacteria obtenidas en Estados Unidos de América así mismo este resultado puede ser comparado con lo reportado en Hungría por Hornok y colaboradores en 2007, en Chipre por Psaroulaki *et al.*, 2009, en Eslovaquia y Republica Checa por Dardakova y colaboradores en 2011 y lo reportado en China por Liu *et al.*, 2012. La amplificación de *A. ovis* en cabras y ovinos alrededor de 347pb con oligonucleótidos específicos para una región del gen *msp4*, de forma similar a lo descrito por Torina *et al.*, 2012, que indica que es una región específica del gen *msp4* de *A. ovis*.

CONCLUSIÓN

Anaplasma ovis está presente en los ovinos y caprinos de la región lo cual sugiere que la infección está dada por esta bacteria.

LITERATURA CITADA

Bahzad H., 2011. Clinical and hematological study on ovine anaplasmosis in Sulaimani Povinve-Iraq. Bas J. Vet. Res. 2: 97-104.

Crisafuli, F. A. P., Ramos, E. B., Rocha, M. S. 2015 Characterizing the interaction between DNA and GelRed fluorescent stain. European Biophysics Journal, v.44, p.1 – 7.

de la Fuente, J., Lew, A., Lutz, H., Meli, M.L., Hofmann-Lehmann, R., Shkap, V., Molad, T., Mangold, A.J., Almazán, C., Naranjo, V., Gortázar, C., Torina, A., Caracappa, S., García-Pérez,

A.L., Barral, M., Oporto, B., Ceci, L., Carelli, G., Blouin, E.F., Kocan, K.M. 2005b. Genetic diversity of *Anaplasma* species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. *Anim. Health Res. Rev.* 6, 75–89.

de la Fuente, J., Torina, A., Caracappa, S., Tumino, G., Furla, R., Almazan, C., Kocan, K.M. 2005a. Serologic and molecular characterization of *Anaplasma* species infection in farm animals and ticks from Sicily. *Vet Parasitol* 133, 357-362.

De la Fuente J., Atkinson M., Naranjo V., Fernandez de Mera I., Mangold A., Keating K., Kocan K., 2006. Sequence analysis of the *msp4* gene of *Anaplasma ovis* strain. *Vet. Mic.* 119:375-381.

Derdakova, M., A. Stefancikova, E. Spitalska, V. Taragelova, T. Kostalova, G. Hrklova, K. Kybicova, P. Schanilec, V. Majlathova, M. Varady, and B. Petko. 2011. Emergence and genetic variability of *Anaplasma* species in small ruminants and ticks from Central Europe. *Veterinary microbiology* 153:293-298.

Friedhoff, K. T., 1997: Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. *Parassitologia* 39(Suppl 1): 99–109.

Garcia, M., R. Andreotti, F. Reis, A. Aguirre, J. Barros, J. Matias, and W. Koller. 2014. Contributions of the hair sheep breed Santa Ines as a maintenance host for *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) in Brazil. *Parasites & vectors* 7:515.

Garcia, M., R. Andreotti, F. Reis, A. Aguirre, J. Barros, J. Matias, and W. Koller. 2014. Contributions of the hair sheep breed Santa Ines as a maintenance host for *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) in Brazil. *Parasites & vectors* 7:515.

Gaxiola-Camacho, S., Z. Garcia-Vazquez, C. Cruz-Vazquez, J. Portillo-Loera, C. Vazquez-Pelaez, M. T. Quintero-Martinez, and R. Rosario-Cruz. 2009. Comparison of efficiency and reproductive aptitude indexes between a reference and field strains of the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, in Sinaloa, Mexico. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria* 18:9-13.

Hornok S., de la Fuente J., Biró N., Fernandez de Mera I., Meli M., Elek V., Gönczi E., Meili T., Tánczos B., Farkas R., Lutz H., Hofmann-Lehman R., 2011. First molecular evidence of *Anaplasma ovis* and *Rickettsia* spp. in keds (Diptera: Hippoboscidae) of sheep and wild ruminants. *Vector-Borne and Zoonotic diseases* 10:1319-1321.

Hornok S., Hofmann-Lehmann R., Fernandez de Meraz I., Meli M., Elek V., Hajtós I., Répasi A., Gönczi E., Tánczos B., Farkas R., Lutz H., de la Fuente J. 2010. Survey on blood-sucking lice (Phthiraptera: Anoplura) of ruminants and pigs with molecular detection of *Anaplasma* and *Rickettsia* spp. *Vet. Parasitology* 174:355-358.

Hornok S., Vilmos E., de la Fuente J., Naranjo V., Farkas R., Majoros G., Földvári G., 2007. First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. *Vet. Mic.* 122: 316-322.

INEGI. 2009. Instituto Nacional de Estadística y Geografía e Informática, Censo Agrícola Ganadero y Forestal 2007. Obtenido el 3 de febrero del 2015 en <http://mapserver.inegi.org.mx/geografia/espanol/estados/sin/clim.cfm?c=444&e=09>

- Liu Z, Luo J, Bai Q, et al. Amplification of 16S rRNA genes of *Anaplasma* species in China for phylogenetic analysis. *Vet Microbiol.* 2005;107(1-2):145–148.
- Jansson, L. (2017) Cross-sectional study of *Anaplasma spp.* in goats and sheep in Mongolia, A comparison between species in relationship to pasture conditions. Swedish University of Agricultural Sciences
- Liu Z., Ma M., Wang Z., Wang J., Peng Y., Li Y., Guan G., Luo J., Yin H., 2012. Molecular survey and genetic identification of *Anaplasma* species in goats from central and southern China. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:464-470.
- Noaman, V. 2012. Identification of hard ticks collected from sheep naturally infected with *Anaplasma ovis* in Isfahan province, central Iran. *Comp Clin Pathol* 21:367-369.
- Psaroulaki A., Chochlakis D., Sandalakis V., Vranakis I., Ioannou I., Tselentis Y., 2009. Phylogenetic analysis of *Anaplasma ovis* strains isolated from sheep and goats using *groEL* and *mps4* genes. doi:10.1016/j.vetmic.2009.04.018.
- Renneker S., J. Abdo D. E. A., Salih T., Karagenç H., Bilgiç A., Torina A., G. Oliva J., Campos B., Kullmann J., Ahmed and U. Seitzer. 2013. Can *Anaplasma ovis* in Small Ruminants be Neglected any Longer? *Transboundary and Emerging Diseases* 60:105-112.
- Rymaszewska A., Grenda S. 2008. Bacteria of the genus *Anaplasma* characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review *Veterinarni Medicina*, 53, 2008 (11): 573–584
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., y Maniatis, T. 1989. En: *Molecular cloning. Laboratory manual.* 2da. edition. Cold spring Harbor laboratory press.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1994. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.* 22, 4673–4680.
- Torina, A., Agnone, V., Blanda, A., Alongi, R., D'Agostino, S., Caracappa, A. M., Marino, V., Di Marco, and J., de la Fuente. 2012. Development and validation of two PCR tests for the detection of and differentiation between *Anaplasma ovis* and *Anaplasma marginale*. *Ticks and tick-borne diseases* 3:283-287.

DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE OVEJAS PELIBUEY Y FACTORES QUE AFECTAN EL PESO AL NACER DE LOS CORDEROS EN CLIMA TROPICAL SECO

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

Cinthya Beatriz Romo Barron^{1*}, Jesús José Portillo Loera¹, Arnulfo Montero Pardo¹, María Teresa Espinoza León¹, Christian de Jesús Urías Castro¹ Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola¹
Carlos Fernando Aréchiga Flores²

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Sinaloa.

*cinthya.romo.fmvz@uas.edu.mx

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Autónoma de Zacatecas

RESUMEN

Con la finalidad de conocer los factores que afectan el desempeño reproductivo y productivo de los ovinos Pelibuey en trópico seco se realizó un estudio observacional retrospectivo y comparativo a partir de registros de 2010-2016 de una UPP de ovinos Pelibuey de registro en Culiacán, Sinaloa. La información obtenida incluyó datos de: Identificación de la madre (IDM), fecha de parto (FP), tipo de parto (TP), sexo del cordero (SE), peso del cordero (PCN) e identificación de los corderos (IDC). Se creó una base de datos con 786 registros de corderos; se calcularon las variables: Fecha de parto (FP), año de parto (AP), mes de parto (MP), época de parto (EP), año de concepción (AC), mes de concepción (MC), época de concepción (EC) y número de corderos nacidos (NC). Para las variables índice de prolificidad (IP), distribución de concepciones, partos por mes y tipo de parto, se realizó un análisis gráfico y se calcularon porcentajes. La proporción de partos por estación del año se analizó con la prueba de ji cuadrada. La distribución de partos fue afectada por época climática ($P < 0.01$), el mayor porcentaje de partos se presentó en invierno (40.10%). Para determinar los factores que afectan el peso al nacer se utilizó el PROC GLM (SAS, 2002), para realizar el análisis de la varianza considerando como variable dependiente el PNC, y como variables independientes los efectos de AC, EC, AP, EP, TP, SE, las interacciones de dos y tres factores. Las comparaciones de medias se realizaron con la prueba de t de Student y prueba de Tukey. El nivel de alfa para aceptar diferencia estadística fue máximo de 0.05. El peso promedio de los corderos fue 2.93 ± 0.71 kg, los machos fueron más pesados que las hembras ($P < 0.05$) 3.00 ± 0.74 vs 2.85 ± 0.67 . El peso de los corderos de parto simple fue igual al de parto doble pero mayor ($P < 0.05$), al de parto triple y cuádruple, entre los partos dobles, triple y cuádruples no hubo diferencia.

Palabras clave: Pelibuey, partos, peso al nacer, trópico seco.

ABSTRACT

In order to know the factors that affect the reproductive and productive performance of Pelibuey sheep in the dry tropics, a retrospective and comparative observational study was made records of 2010-2016 of a Pelibuey UPP of sheep in Culiacán, Sinaloa. The information obtained included data on: Identification of the mother (IDM), date of lambing (FP), lambing type (TP), sex of the lamb (SE), weight of the lamb (PCN) and identification of the lambs (IDC). With this

information, a database with 786 records of lambs was created; from them the variables were calculated: Date of delivery (FP), year of birth (AP), month of birth (MP), time of delivery (EP), year of conception (AC), month of conception (MC), conception time (EC) and number of lambs born (NC). For the variables prolificacy index (PI), distribution of conceptions, births by month and type of delivery, a graphical analysis was performed and percentages were calculated. The proportion of deliveries by season of the year was analyzed with the chi-square test. The distribution of births was affected by climate season ($P < 0.01$), the highest percentage of births occurred in winter (40.10%). To determine the factors that affect birth weight, the GLM PROC (SAS, 2002) was used to perform the variance analysis considering the PNC as a dependent variable, and as independent variables the effects of AC, EC, AP, EP, TP, SE, the interactions of two and three factors. The mean comparisons were made with the Student's t test and the Tukey test. The alpha level to accept statistical difference was maximum 0.05. The average weight of the lambs was 2.93 ± 0.71 kg, the males were heavier than the females ($P < 0.05$) 3.00 ± 0.74 vs 2.85 ± 0.67 . The weight of the lambs of simple birth was equal to that of double delivery but greater ($P < 0.05$), to the one of triple and quadruple birth, between the double, triple and quadruple births there was no difference.

Key words: Pelibuey, births, birth weight, dry tropic.

INTRODUCCIÓN

El ovino ha sido criado a pequeña, mediana y gran escala durante muchos años, es una fuente de alimento y de sustento económico para los productores en México. De acuerdo con las estadísticas oficiales en la República Mexicana el inventario en 2014 fue de 8,575,908 ovinos; donde el 52% se encuentra en la zona centro del país, 23% en la zona sur, 14 en la zona occidente y el 11% restante se encuentra en la zona norte (SIAP, 2016). En 2016 la producción nacional de carne de ovino en canal fue de 60,362 t (SIAP, 2017); sin embargo esta producción no satisface la demanda, ya que se importan más de 30,000 toneladas por año (SIAP, 2014). En Sinaloa de 2010 a 2014, el inventario de ovinos disminuyó en 6.57%, al registrarse 211,764 y 197,842 cabezas, respectivamente (SIAP, 2016). Entre las posibles causas de la reducción del inventario, destacan las condiciones ambientales con elevada temperatura, siendo esta de hasta 40°C y una humedad relativa de 70%, que prevalecen durante los meses de verano; y esto pudiera estar afectando los parámetros productivos y reproductivos en las explotaciones ovinas, que existen en el estado. Aunado a esto, las temperaturas promedio mundiales se han modificado drásticamente comparado con patrones históricos, ya que; en el último siglo aumentaron más de 0.5°C , y en la década de los 90 resultó ser una de las más calientes registradas hasta el momento (Menghi, 2007). Dadas estas condiciones ambientales durante varios meses del año que ocasionan un estrés calórico en los ovinos, limita al uso de razas de pelo y las cruza entre ellas por su amplia estacionalidad reproductiva, rusticidad para el pastoreo y alta prolificidad (Cuellar, 2006, Cuéllar, 2007), siendo las más explotadas la Pelibuey y la Blackbelly, debido a su adaptabilidad al calor y humedad, recientemente, se han introducido las razas como Katahdin y Dorper para mejorar algunas características productivas (Nava-López et al., 2006, Ross et al., 1985, Horton y Burgher, 1992).

Entre los ovinos de razas de pelo con mayor presencia en México se encuentra la Pelibuey, la cual está difundida de forma importante en los rebaños, sobre todo en aquellos localizados en

la regiones tropicales, subtropicales, cálidas e incluso áridas. (Wildeus, 1997; Nuncio-Ochoa et al., 2001, 473; Góngora-Pérez et al., 2010; Pérez-Hernández et al., 2011). Se trata de animales de tamaño pequeño a mediano (entre 35 y 80 kg), que en lugar de lana presentan pelo, con tres coloraciones básicas: café, blanca y pinta; en algunas ocasiones llegan a presentar zonas de pelaje negro. Si bien se trata de animales que no son muy productivos en cuanto al rendimiento en carne, su valor radica en la adaptación que han tenido en prácticamente todas las regiones agroecológicas del país y también su alta fertilidad, prolificidad de 1.2 a 1.8 corderos por parto y una actividad reproductiva casi continua a lo largo del año (Galina *et al.*, 1996; Segura et al., 1996; Valencia et al., 2006; Arroyo et al., 2007). Esta última característica merece especial atención, ya que la estacionalidad reproductiva de las ovejas (*Ovis aries*) limita la producción continua de corderos, situación que adquiere importancia, cuando existe un déficit en la oferta del producto terminado (cordero destetado y finalizado) y cuando la demanda se mantiene sin satisfacer durante todo el año. Por tal motivo, identificar y cuantificar el grado de participación de aquellos factores que afectan el proceso reproductivo de las ovejas, adquiere relevancia, Particularmente, en los ovinos Pelibuey se han realizado diversos esfuerzos con el fin de conocer su potencial genético y los factores que afectan su producción (Hinojosa-Cuellar et al., 2012; Quiroz et al., 2012; Quiroz y Oliva, 2013). Para establecer estrategias de manejo reproductivo en esta especie, se necesita conocer la manera como se comportan a través del año.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México presenta un déficit en cuanto a la producción de carne ovina por lo que anualmente se importan alrededor de 30 000 ton para satisfacer la demanda nacional, mientras que los trópicos representan una oportunidad para aumentar la producción ovina debido a la buena disponibilidad de alimento, pocas razas presentan características de adaptabilidad a estos climas adversos.

Los ovinos de pelo se han criado por los productores de estas zonas, destacando la raza Pelibuey por su rusticidad, por ello es necesario caracterizar su desempeño reproductivo y productivo con la finalidad de establecer estrategias de manejo.

HIPÓTESIS

En condiciones de trópico seco en la zona centro de Sinaloa las ovejas Pelibuey muestran comportamiento reproductivo anual con baja estacionalidad.

En condiciones de trópico seco en la zona centro de Sinaloa el peso al nacer de corderos Pelibuey es afectado por factores ambientales como la época de concepción y parto, y relacionados con el animal como edad de la madre, tipo de parto, semental y sexo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el desempeño reproductivo y factores que afectan el peso al nacer de ovinos Pelibuey en condiciones de trópico seco.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Caracterizar la distribución de concepciones y partos de ovejas Pelibuey en condiciones de trópico seco.

Determinar los factores que influyen en el peso al nacer de corderos Pelibuey en condiciones de trópico seco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio, localización y características climáticas de la granja.

Se realizó un estudio observacional retrospectivo y comparativo a partir de los registros reproductivos de la Unidad de Producción Pecuaria granja de ovinos Pelibuey de registro para pie de cría, ubicada en la comunidad “El Pozo”, municipio de Culiacán, Sinaloa (24° 46' 13" LN y 107° 21' 14" LO), y altitud de 40 msnm. La región se caracteriza por tener un clima BS1 (h') w(w)(e), el cual se define como clima semi seco, muy cálido, con lluvias en verano, según la clasificación de Köppen y modificada por García (2004); con temperatura promedio anual de 25.9 °C, máxima de 30.4 °C en junio y julio, y mínima de 20.6 °C en enero; la humedad relativa promedio es de 68%, con máxima de 81% en septiembre y mínima de 51% en abril; la precipitación anual promedio es de 688.5 mm (CIAPAN, 2002).

Manejo reproductivo, alimentación y medicina preventiva

Durante el periodo que comprendió el análisis de la información (2010-2016) las ovejas se manejaron bajo un sistema de apareamiento controlado con monta natural, para esto se formaron lotes de 20 a 30 hembras por semental, los apareamientos se realizaron de manera continua durante todo el año.

Las ovejas se encontraban bajo sistema estabulado por lo que la alimentación consistió en una dieta integral con requerimientos que varían según la etapa productiva de los animales. La dieta de gestación y lactancia se proporcionó desde 40 días antes del parto hasta 60 a 70 días de lactancia. La dieta de mantenimiento con 3 Mcal/kg de EM y 13.5% de proteína cruda (NRC, 1984) se ofrece después de la lactancia hasta 40 días antes del parto. A los corderos se les ofreció dieta de iniciación a partir de las dos semanas de edad. Los sementales son alimentados con la dieta que se utiliza para ovinos en engorda.

Los corderos se pesaron al nacimiento dentro de las primeras horas de nacidos (CONARGEN, 2010) y al destete, posteriormente se pesaron cada mes, se aplica bacterina para prevenir enfermedades causadas por *Clostridium* sp y *Pasteurella* sp a dosis de 2.5 mL por animal. Para el control de nematodos gastrointestinales, se administra por vía oral closantel a dosis de 10 mg/kg de peso vivo a los corderos al destete, mientras que a las ovejas se les suministra 40 días antes del parto y a los sementales cada seis meses.

Base de datos

La información se obtuvo a partir de los formatos de los registros elaborados según los lineamientos de la guía técnica para ovinos (CONARGEN, 2010) que incluye los datos de: Identificación de la madre (IDM), fecha de parto (FP), tipo de parto (TP), sexo del cordero (SE), peso del cordero (PCN) e identificación de los corderos (IDC). Con esta información se creó una

base de datos en Microsoft Excel con 786 registros de corderos; a partir de estos registros se calcularon las variables de: Fecha de parto (FP), la cual se desglosó en año de parto (AP) y mes de parto (MP), además a partir del mes de parto se obtuvo la variable época de parto (EP) la cual se clasificó en cálida y fresca. La fecha probable de empadrear se obtuvo al restar 150 días a la fecha de parto, además se desglosó también en año de empadrear (AE), mes de empadrear (ME) y época de empadrear (EE), a partir de la variable tipo de parto se obtuvo el número de corderos nacidos (NC), dato que se relacionó con cada cordero registrado. La base de datos en Excel, se filtró para detectar errores de captura en los registros o en la computadora, así mismo, los valores de PCN se estandarizaron y se eliminaron los PCN que tuvieron valor de Z mayor que 3 o menor que -3. Se utilizaron los datos completos de 780 corderos nacidos entre 2010 y 2016 para calcular el índice de prolificidad (IP), después se excluyeron los registros de corderos que no tenían peso al nacimiento y quedaron 685 registros, con estos se realizó el análisis de los factores.

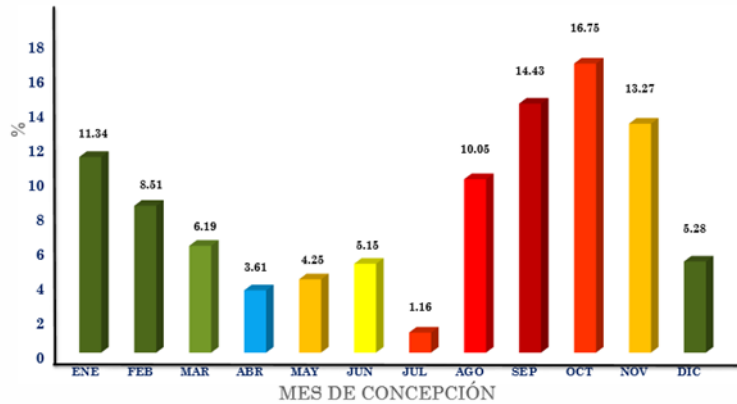
Análisis estadístico

Para las variables IP, distribución de empadres y partos por mes y tipo de parto, se realizó un análisis gráfico y se calcularon porcentajes. La proporción de partos por estación del año se analizó con la prueba de ji cuadrada. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para probar la normalidad de los datos. Para determinar los factores que afectan el peso al nacer se utilizó el PROC GLM (SAS, 2002), para realizar el análisis de la varianza considerando como variable dependiente el peso al nacer de los corderos, y como variables independientes los efectos de AC, EC, AP, EP, TP, SE, las interacciones de dos y tres factores. Las interacciones que mostraron que no eran estimables las sumas de cuadrados se eliminaron del modelo, quedando al final el modelo con 26 efectos. En caso de requerirse comparaciones de medias se realizó la prueba de t de Student y prueba de Tukey. El nivel de alfa para aceptar diferencia estadística fue máximo de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Distribución de empadres por mes

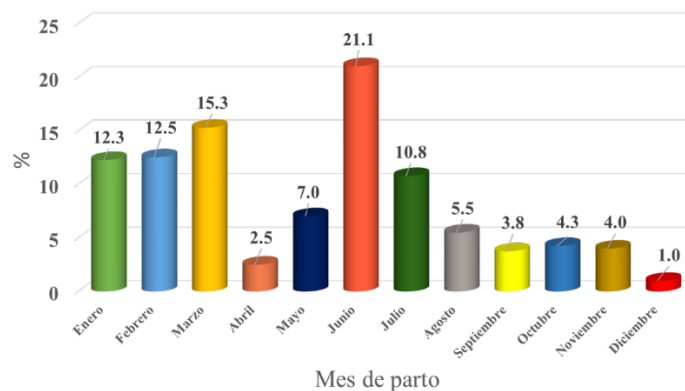
La distribución de concepciones por mes durante el periodo de 2009 a 2016 se muestra en la Gráfica 1. Los resultados confirman que bajo las condiciones climáticas y de manejo en las que se mantiene a las ovejas, se tiene actividad reproductiva todo el año; sin embargo, se puede observar que el 54.4% de las concepciones ocurren de agosto a noviembre, 31.32% se presentan de diciembre a marzo, y el periodo con menos porcentaje de concepciones es de abril a julio con un 14.17%. Aunque en el análisis preliminar no se incluyeron la fecha exacta de la monta, ni la edad de las ovejas, los resultados obtenidos coinciden con [Hafez \(1952\)](#) quien en la década de los 50 mencionó que las ovejas de origen ecuatorial presentan estacionalidad reproductiva reducida. Otros estudios indican que existe disminución de la actividad reproductiva en los meses de febrero a mayo (Heredia *et al.*, 1991; González-Reyna *et al.*, 1991; González-Reyna *et al.*, 1992).



Grafica 1. Distribución de la actividad reproductiva por mes (concepción) de ovejas Pelibuey (2010-2016).

Distribución de partos por mes

La distribución de partos por mes durante el periodo de 2010 a 2016 se muestra en la Gráfica 2. El periodo de mayor porcentaje de partos (42%) se presenta de enero a marzo, en junio y julio ocurre el 29.77%, y en el resto de los meses ocurrieron de 3.5 a 6% de partos, con excepción de diciembre que solo presenta 1% de los partos. Al agrupar los partos por estación del año, hubo diferencia estadística ($P < 0.01$) entre las cuatro estaciones (Cuadro 1), donde el 40.10% de los partos ocurrieron en invierno, seguido por la primavera con 30.58%. Considerando la duración del período de gestación de la oveja (150 días; Nalvandov, 1969) se deduce que de marzo a mayo existió menor frecuencia de hembras en condiciones reproductivas para ser apareadas y/o que se presentó un menor porcentaje de concepción. Sin embargo, en algún periodo de tiempo, es posible que por algún manejo en los corrales, como la limpieza, los apareamientos no se realizaron. Se puede deducir que la mayor cantidad de partos se localiza en la época más favorable para reducir la mortalidad o por las exigencias de mercado de la región (De Lucas, 2008).



Grafica 2. Distribución de partos de ovejas Pelibuey por mes (2010-2016).

Cuadro 1. Frecuencias absolutas y porcentaje de partos por estaciones climáticas de ovejas Pelibuey en trópico seco.

Estación de parto	Frecuencia	Porcentaje
Invierno	160	40.10 ^a
Primavera	122	30.28 ^b
Verano	80	20.05 ^c
Otoño	37	9.27 ^d
Total	399	100

^{a, b, c, d} valores con diferente superíndice dentro de la columna indican diferencia

($P < 0.01$).

Tipo de parto e índice de prolificidad

La distribución de partos fue de 28% para parto simple, 60% de partos dobles, 11% triples y 1% de partos cuádruples. Cuando los rebaños han sido seleccionados para IP alta, la distribución de partos simples, dobles y triples fue de 15%, 51% y 34%, respectivamente (Macedo y Arredondo, 2008). De igual modo Argüello-Hernández *et al.*, (2014) mencionan que el uso de marcadores moleculares brinda la posibilidad para realizar selección asistida para tener ovejas con partos dobles o triples, sin embargo existe el inconveniente de los partos triples, ya que se requiere más tiempo para amamantar a los corderos.

La prolificidad varió de 1.75, 1.81, 1.80, 1.80, 1.80, 1.79 y 2.15 durante los años de 2010 a 2016, respectivamente. En promedio el IP fue de 1.85 ± 0.13 . Los índices de prolificidad son adecuados, ya que para esta raza varían de 1.2 a 1.5 (Aguilar-Martínez, 2017). Cuando las ovejas han recibido *flushing* el IP ha sido de 1.8, esto coincide con este estudio puesto que las ovejas se suplementaron desde 40 días previo a la monta obteniendo IP de 1.8, lo que también coincide con lo establecido por la UNO (2016) para ganado de pie de cría. Macedo y Arredondo (2008) indican valores de IP 2.15 en rebaños seleccionados para esta característica, valor que coincide con el último año de análisis del presente estudio.

Peso al nacer

El análisis de la varianza mostró que los factores TP, SE y las interacciones AC*EC, AC*TP fueron significativas ($P < 0.01$), sin embargo el modelo explica solo el 22.54% de la variación en el peso al nacer, con un coeficiente de variación de 22.5%. Esto indica que existen otros factores como fuentes de variación que influyen en el peso al nacer, como la edad de la madre (De Lucas-Tron *et al.*, 2003) y el padre (Hinojosa-Cuellar *et al.*, 2012); además que existe variabilidad fenotípica, la que es importante para obtener respuesta a la selección.

El peso promedio general de corderos Pelibuey al nacimiento fue 2.93 ± 0.71 kg, y el efecto del sexo y el tipo de parto es presentado en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Peso al nacer de corderos Pelibuey según el número de crías al parto y sexo del cordero.

Crías al parto	Hembras		Machos		General
	n	$\bar{x} \pm s$	n	$\bar{x} \pm s$	

1	57	3.13 ± 0.86 ^b	52	3.49 ± 1.02 ^a	3.30 ± 0.95 ^A
2	217	2.87 ± 0.62 ^b	253	2.99 ± 0.62 ^a	2.94 ± 0.62 ^{ab}
3	58	2.46 ± 0.48	44	2.57 ± 0.61	2.51 ± 0.54 ^b
4	1	3	3	1.90 ± 0.14	2.19 ± 0.55 ^{bc}
General	333	2.85 ± 0.67 ^b	352	3.00 ± 0.74 ^a	2.93 ± 0.71

^{abc} Literales distintas en hilera indican diferencia estadística (P<0.05).

^{ABC} Literales distintas en columna indican diferencia estadística (P<0.05).

En el presente estudio se detectó influencia del sexo del cordero en el PN. Este resultado coincide con los observados en varios estudios en corderos Pelibuey (Carrillo *et al.* 1987; Carrillo y Segura 1993; Ramírez *et al.* 1995). Sin embargo Hinojosa-Cuellar *et al.*, (2012) no detectaron diferencia estadística entre el PN debido al sexo. El mayor peso en los machos se atribuye según la teoría del dimorfismo sexual (Martín-Vivaldi, 2019) donde el macho con mejores características se aparea con las hembras y hereda su mejoría, en este caso en cuanto al peso corporal que posiblemente se manifiesta desde el nacimiento.

El número de crías al nacer afectó el PN cuando se compararon los partos con una cría con partos con tres crías (P<0.05). El peso de los corderos de nacimiento único fue similar al peso de los corderos de dos crías (P>0.05), y no hubo diferencia en el peso al nacer cuando nacieron 2, 3 o 4 crías. La mayoría de los estudios indican que existe superioridad en el peso de los corderos Pelibuey de nacimiento simple y el peso de los de nacimiento múltiple (Carrillo *et al.*, 1987; Carrillo y Segura-Correa 1993; Ramírez *et al.*, 1995; Macedo y Arredondo 2008).

En la interacción de AC*TP se puede observar que el peso de los corderos aumentó conforme los años, pero el efecto se observó principalmente en los partos simples. Debido a que hasta el momento no se consideró en el análisis el efecto de la edad de la oveja, esto pudiera estar confundiendo los resultados, ya que se han encontrado diferencias de 0.88 kg (P<0.01) para peso al nacer a favor corderos provenientes de ovejas multíparas comparados corderos de primíparas (Hinojosa-Cuellar *et al.*, 2018), además se ha evaluado el periodo de mayor actividad reproductiva en ovejas multíparas comparado con ovejas nulíparas donde una observación interesante es que las ovejas nulíparas mostraron actividad ovulatoria menor (P<0.05) en los meses de abril a julio (5.6, 5.6, 5.9 y 29.4 %, respectivamente) que las hembras adultas; lo que podría estar limitando la concepción de las ovejas nulíparas a los meses de época fresca (Valencia *et al.* 2006).

CONCLUSIONES

Aunque en los análisis preliminares no se han considerado datos muy importantes para poder evaluar la eficiencia reproductiva de las ovejas y productiva de los corderos, se pueden presentar algunas conclusiones preliminares basado en la distribución de concepciones y partos los cuales ocurrieron durante todo el año. En el presente estudio, se puede observar que la mayor cantidad de partos se presentó durante el invierno, por lo que se puede deducir que la mayor cantidad de concepciones se obtuvo durante el otoño, dadas las condiciones climáticas de la región, estos meses corresponden a temperaturas un poco más cercanas a la zona de confort térmico de las ovejas.

En cuanto a los factores que afectan el peso al nacer de los corderos Pelibuey, se encontraron principalmente el tipo de parto, sexo y año de nacimiento, por lo que podría atribuirse a la

selección realizada durante el periodo de estudio para mejorar esta característica. La época de parto más favorable para esta característica es la fresca.

Aun es necesario incluir algunos datos de las ovejas, sementales y manejo que podrían modificar drásticamente los resultados de este estudio dada su importancia, sobre los parámetros analizados.

LITERATURA CITADA

Argüello-Hernández, H.J., Cortez-Romero, C., Rojas-Martínez, R.I., Segura-León, O.L., Herrera-Haro, J.G., Salazar-Ortiz, J., Gallegos-Sánchez, J. 2014. Polimorfismos de la proteína 15 morfogénica ósea (BMP15) y su relación con el tipo de parto en la oveja Pelibuey. *Agrociencia*. 48:53–69.

Arroyo J. 2011. Estacionalidad reproductiva de la oveja en México. *Trop Subtrop Agroecosyst* 2011;14(3):829-845

Arroyo, L.J., Gallegos-Sánchez, J., Villa-Godoy, A., Berruecos, J.M., Perera, G., Valencia, J. 2007. Reproductive activity of Pelibuey and Suffolk ewes at 19° north latitude. *Animal Reproduction Science*. 102:24–30.

Camacho, A.; Bermejo, L. A.; Mata, J. 2007. Análisis del potencial productivo del ovino canario de pelo *Archivos de Zootecnia*, vol. 56, núm. Su1, diciembre, 2007, pp. 507-510 Universidad de Córdoba. Córdoba, España

Castillo, M. P. P., H. Vaquera, L. A. Tarango, P. Pérez, A. C. Herrera y J. Gallegos. 2013. Restablecimiento de la actividad reproductiva posparto en ovejas de pelo. *Arch. Zootec.* 62(239):419-428.

CIAPAN. Guía para la asistencia técnica del Valle de Culiacán. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias. Culiacán, Sinaloa, México. 92 pp. 2002.

CONARGEN (Comisión Nacional de Recursos Genéticos AC). 2010. Guía Técnica de Ovinos.

CUÉLLAR, A. 2007. Perspectivas de la producción ovina en México para el año 2010. *Rev Borrego*, 47, 14-18.

CUELLAR, O. 2006. La producción ovina en México. Descripción general de la ovinocultura empresarial de occidente. Memorias de la Primera semana Nacional de ovinocultura en Tulancingo Hidalgo, México.

De Lucas-Tron. J., L. A. Zarco, E. González, J. Tortora, A. Villa y C. Vásquez. 2003. Crecimiento predestete de corderos en sistemas intensivos de pastoreo y manejo reproductivo en el altiplano central de México. *Vet. Méx.* 34(3):235-245.

De Lucas-Tron J. Estrategias para disminuir la mortalidad perinatal de corderos En: *Tecnologías para ovinocultores*. México, DF. 2008.

- Galina, M.A., Morales, R., Silva, E., López, B. 1996. Reproductive performance of Pelibuey and Blackbelly sheep under tropical management systems in Mexico. *Small Ruminant Research*. 22:31–37.
- García, E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarla a las condiciones climáticas de la República Mexicana). Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 144 pp. 2004 ISBN 970-32-1010-4
- González-Reyna, A., Murphy, B.D., Foot, W.C. 1992. Circannual estrous variations and ovulation rate in Pelibuey ewes. *Small Ruminant Research*. 8: 225-232.
- González-Reyna, A., Valencia, J., Foot, W.C., Murphy, B.D. 1991. Hair sheep in México: Reproduction in the Pelibuey sheep. *Animal Breeding Abstracts*. 59: 509-524.
- Hafez, E.S.E. 1952. Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. *Journal Agricultural Science*. 42: 189-265.
- Heredia, A., Menéndez, T.M., Velázquez, M.A. 1991. Factores que influyen en la estacionalidad reproductiva de la oveja Pelibuey. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. p. 115.
- Hinojosa-Cuéllar J.A., Oliva-Hernández J., Torres-Hernández G., Segura C.J., González G. R. 2018. Crecimiento pre y posdestete de corderos Pelibuey en clima cálido húmedo. *Nova Scientia*. Nº 20, Vol. 10 (1), 2018. ISSN 2007 – 0705, pp.: 328 – 351.
- Hinojosa-Cuéllar, J.A., J. Oliva-Hernández, G. Torres-Hernández, J.C. Segura-Correa, E. Aranda-Ibañez & J.M. González-Camacho. (2012). Factores que afectan el crecimiento predestete de corderos Pelibuey en el trópico húmedo de México. *Universidad y Ciencia* 28 (2): 163-171.
- Horton, G. y Burgher, C. 1992. Physiological and carcass characteristics of hair and wool breeds of sheep. *Small Ruminant Research*, 7, 51-60.
- Macedo, R., Arredondo, V. 2008. Efecto del sexo, tipo de nacimiento y lactancia sobre el crecimiento de ovinos Pelibuey en manejo intensivo. *Archivos de Zootecnia*. 57:219–228.
- Martín-Vivaldi, Manuel & Cabrero, Josefa & De, Departamento & Facultad, Genética & Granada, De. (2019). Capítulo 13: SELECCIÓN SEXUAL.
- Nalvandov, A.V. Período de Cría. In: *Fisiología de la Reproducción*. Acribia. Zaragoza, España. 303 pp. 1969.
- Nava-López, V.M.; Oliva-Hernández, J.; Hinojosa-Cuéllar, J.A. Mortalidad de los ovinos de pelo en tres épocas climáticas en un rebaño comercial en la Chontalpa, Tabasco, México. *Univers. y Cien*. 22 (2):119-129. 2006.
- NRC. *Nutrient requirements of sheep*. 6th ed. Washington, DC: National Academy Press; 1985.
- Quiroz, J. y J. Oliva. (2013). Manejo genético de los ovinos de pelo en el trópico húmedo. Opciones a considerar en un programa de mejoramiento genético. Saarbrücken, Alemania: Editorial Académica Española.

Quiroz, J., G. Guerrero, J. Oliva, L. Granados, & M. Barrón. (2012). Evaluación genética de características de crecimiento del ovino Pelibuey en Tabasco, México. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 2: 355-360.

Ross, T.T.; Goode, L.; Linnerud, A.C. Effects of ambient temperature on respiration rate, rectal temperature, fetal development and thyroid gland activity in tropical and temperate breeds of sheep. *Theriogenol.* 24 (2): 259-269. 1985

SAS Inc. 2002. *The SAS System for Windows 9.0*. Cary, NC, USA.

Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Avance

UNO (Unidad Nacional de Ovinocultores). (2017). Comportamiento mensual de precios cordero en el centro del país (kg en pie). Servicios. Monitoreo de precios. <http://www.uno.org.mx/servicios/monitoreo.html> (11 de octubre de 2017).

UNO (Unidad Nacional de Ovinocultores). (2017). Comportamiento mensual de precios cordero en el centro del país (kg en pie). Servicios. Monitoreo de precios. <http://www.uno.org.mx/servicios/monitoreo.html>

Valencia, J., Porras, A., Mejía, O., Berruecos, J.M., Trujillo, J., Zarco, L. 2006. Actividad reproductiva de la oveja Pelibuey durante la época del anestro: influencia de la presencia del macho. *Revista Científica, FCV-LUZ*. XVI:136–141.

Wildeus, S. 1997. Hair sheep genetic resources and their contribution to diversified small ruminant production in the United States. *Journal of Animal Science*. 75:630–640.

EFECTO DE DINOFLAGELADOS TÓXICOS EN LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA Y TRACTO DIGESTIVO DEL OSTIÓN DE PLACER *Crassostrea Cortezensis* (HERTLEIN, 1951)

¶Mónica Areli Ibarra Alcaraz^{1,2}, Miguel Ángel Hurtado Oliva^{2,1}, Rosalba Alonso Rodríguez^{3,2}, Mercedes Marlenne Manzano Sarabia^{4,1}, Idalia Osuna Ruíz^{5,3}, Omar Hernando Ávila Poveda^{6,1}.

¹Maestría en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa: monica_facimar@uas.edu.mx. Paseo Clausen, Los Pinos 82000 Mazatlán, Sin.

²Universidad Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
Cap. Joel Montes Camarena, Cerro del Vigía, 82040 Mazatlán, Sin.

³Universidad Politécnica de Sinaloa
Carretera Municipal Libre Mazatlán Higuera Km 3, 82199 Mazatlán, Sin.

1. INTRODUCCIÓN

El ostión del placer *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951), un importante recurso acuícola que se distribuye desde el Golfo de California hasta Panamá (Keen, 1971), en México es cultivado principalmente en Nayarit, Sinaloa y Sonora. Su cultivo inició en el estado de Nayarit a finales de 1970, alcanzando en el 2014 el cuarto lugar de producción en Latinoamérica con 9,386 toneladas (FAO, 2014). Los moluscos bivalvos como es el caso de *C. corteziensis* tienen la capacidad de obtener su alimento del medio marino donde son cultivados, esto lo realizan a través de la filtración de las partículas presentes en el agua. Esto los convierte en importantes biomonitores o centinelas de los niveles de contaminación marina. Los moluscos bivalvos presentan una importante susceptibilidad a ser afectados por la cantidad y calidad del alimento que consumen (Campa-Córdova, 2010), siendo el fitoplancton marino su principal fuente de alimentación, este está constituido por especies diversas especies de microalgas y protistas, de muy diversas tallas y formas. El fitoplancton es responsable de más de 45% de la producción primaria neta del planeta, el cual a su vez se alimenta de los nutrientes presentes en el agua, principalmente de nitrógeno, fósforo y sílice. En la actualidad uno de los temas que más preocupan a la sociedad es la calidad del agua de medios acuáticos, ya que debido al aumento de las actividades antropogénicas y por consiguiente el aumento de los desechos, propiciando el aumento de nutrientes, lo cual se conoce como proceso de eutrofización (Aranda-Cirerol, 2014). Se le conoce como florecimiento algal nocivo o FAN, al incremento masivo en un determinado número de células de fitoplancton tóxico, las cuales capaces de consumir el oxígeno y los nutrientes necesarios para la vida de otros organismos. Algunas de las especies presentes en los florecimientos algales, son productoras de toxinas, lo cual afecta de manera directa o indirecta a otros organismos presentes en el medio acuático. Escasas son las investigaciones que han analizado el sistema inmunológico del ostión del placer *Crassostrea corteziensis*, algunos hacen referencia a la determinación de la capacidad oxidativa de los hemocitos (Campa-Córdova *et al.*, 2010), a el efecto del ácido araquidónico en la maduración, sistema inmune y síntesis de prostaglandinas E₂ (Hurtado-Oliva *et al.*, 2009 a), se ha evaluado también el efecto de la dieta y sistema de alimentación (Hurtado-Oliva *et al.*, 2009 b), además se ha demostrado que existen variaciones estacionales en la respuesta inmunológica (Ovalle-Torres, 2015). A pesar de los avances del cultivo de *C. corteziensis* y la recurrencia con la que

se han presentado los florecimientos algales nocivos, hasta el momento no se ha logrado evaluar el impacto del fitoplancton tóxico en la respuesta inmune y su efecto tracto digestivo de los ostiones.

El sistema inmune de los moluscos bivalvos está constituido principalmente por hemocitos, los cuales están implicados en diversas funciones, como reparación de heridas, digestión y transporte de nutrientes, reparación de la concha, excreción y defensa interna (Cheng & Sullivan, 1984). Algunos estudios reportan el efecto de dinoflagelados tóxicos en el sistema inmune de bivalvos, tal es el caso de *Crassostrea virginica* expuesto a 1×10^4 cél/mL de *Prorocentrum mínimum* donde se logró observar que aumentó significativamente la cantidad de hemocitos por volumen de hemolinfa en los ostiones a las algas tóxicas expuesto aumento significativamente, presentándose en menor cantidad los hiliocitos. Sin embargo, las variaciones estacionales del sistema inmune de *C. corteziensis* (Ovalle-Torres), mostraron un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) así como un mayor conteo total y diferencial de hemocitos en invierno, época del año en que se incrementa la abundancia de dinoflagelados tóxicos, particularmente *Prorocentrum mexicanum* (Ibarguen-Zamudio). La almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* se observó agregación de hemocitos y melanización del manto al ser expuestas, las almejas a *Gymnodinium catenatum* a una concentración de 1×10^6 cel/mL (Estrada-Muñoz, 2005). Mientras que un estudio realizado con el camarón blanco *Litopeneus vannamei* a concentraciones de 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 del mismo dinoflagelado se logró se observar inflamación con agregación de hemocitos y los resultados indican que hubo una relación directa entre la presencia de necrosis y la concentración de células de *G. catenatum* (Flores-Chavarria, 2018).

2. HIPÓTESIS

La respuesta inmunológica se incrementará por la ingesta de los dinoflagelados tóxicos, así como la alteración del tracto digestivo de los ostiones, los cuales responderán fisiológicamente diferente a la ingesta de dos especies de microalgas tóxicas

3.

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la exposición de dos diferentes dinoflagelados tóxicos en la respuesta inmune y tracto digestivo de *C. corteziensis*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto de la exposición de dinoflagelados tóxicos (*Gymnodinium catenatum* y *Prorocentrum mexicanum*) en la respuesta inmune (i.e. conteo total y diferencial de hemocitos, viabilidad de hemocitos, fagocitosis, producción de ROS) del ostión *C. corteziensis*.
- Evaluar a través de histología el eventual daño causado en el tracto digestivo de *C. corteziensis* por la exposición a dinoflagelados tóxicos (*Gymnodinium catenatum* y *Prorocentrum mexicanum*).

4. MATERIALES Y MÉTODO

Se realizará el cultivo de *Chaetoceros mulleri*, en medio F. Se obtendrán 150 ostiones de la Bahía de Ceuta, durante la aclimatación serán alimentados con células de *Chaetoceros mulleri*. A continuación se procederá a realizar el cultivo de células de los dinoflagelados tóxicos *Prorocentrum mexicanum* y *Gymnodinium catenatum* en medio F y medio GSe respectivamente, hasta lograr obtener la densidad celular necesaria para el experimento, algunos trabajos reportan que *Prorocentrum mexicanum* ha logrado alcanzar una densidad de $3,4 \times 10^2$ cél/mL, mientras que *Gymnodinium catenatum* 8,000 cél/mL (Moreira-González, 2013) (Guzmán *et al.*, 2012; Estrada-Muñoz, 2005; Flores-Chavarria, 2018; Fraga-Rivas, 2014).

Se determinará el índice de condición a los organismos (IC), para calcular la cantidad relativa del tejido sin concha (biomasa), este se obtendrá a partir del peso del tejido húmedo de 20 organismos, separando el tejido de la concha para secarlos a 60°C por 72 h, donde (PI) corresponde al peso seco de la biomasa mientras que (P2) corresponde al peso seco de la concha.

$$\text{Índice de condición} = \frac{PI * 1000}{P2}$$

Experimento principal

A continuación se procederá a realizar experimentos preliminares, donde se expondrán los ostiones a células de *Gymnodinium catenatum* y *Prorocentrum mexicanum*, con el fin de observar si el organismos es capaz de consumir las células para realizar el experimento principal. En caso contrario se tomaran en cuenta otras alternativas, como obligarlos a mantenerse abiertos o realizar la lisis de las células de dinoflagelados para exponer los hemocitos directamente a las toxinas (Muñoz-Estrada, 2005). Para el experimento principal se utilizaran ostiones adultos de *C. corteziensis* para realizar la exposición a *G. catenatum* y *P. mexicanum*. El experimento se llevara a cabo en recipientes de 5 L un ostión por recipiente, utilizando 30 organismos por cada tipo de dinoflagelado, en total se utilizaran 90 organismos, además de 10 organismo utilizados como control alimentándolos con *C. mulleri*. Se procederá a tomar muestras a 1, 3 y posteriormente 24 horas, y a los 3, 5 y 7 días de exposición a las microalgas toxicas. Se analizaran 5 ostiones por cada tiempo de exposición.

Parámetros inmunológicos

Las muestras de la hemolinfa, se extraerán con una jeringa a través del musculo aductor, para a continuación filtrarla y verificar por observación en microscopio que se encuentre libre de contaminación. Para la determinación de los parámetros inmunológicos, se determinará la viabilidad celular mediante el método descrito por (Sun *et al.*, 2006), utilizando una solución de reactivo de azul de tripano al 4%, a continuación se colocara individualmente en un tubo 100 µl de hemolinfa por ostión, 100 µl de solución antiagregante (SAAH) para hemocitos, así como 5 µl de azul de tripano, para después observarlas al microscopio discriminando las células no viables (Hurtado-Oliva *et al.*, 2015). El conteo total (THC) y diferencial (DHC) de hemocitos se llevara a cabo de acuerdo a lo descrito por (Hurtado-Oliva *et al.*, 2015), mezclando 100 µl de hemolinfa y 100 µl de SAAH, a continuación se colocara la muestra en una cámara Neubauer, para realizar el conteo total de hemocitos y diferencial entre hialinos y granulares. El ensayo de fagocitosis se llevara a cabo mediante la técnica descrita por (Hurtado-Oliva *et al.*, 2011),

modificándolo de la siguiente manera: se mezclaran una muestra de hemolinfa (100 µl) con 100 µl de SAAH y posteriormente se agregara 30 µl de microesferas YG (2.0-um, Polysciences, Eppelheim, Germany). Las muestras serán incubadas a temperatura ambiente por una hora, después se tomara una muestra de hemolinfa y se colocara en una cámara Neubauer y para ser observada al microscopio de epifluorescencia (Labomed, CXRII) (Hurtado-Oliva *et al.*, 2015). La producción de anión superóxido se llevara a cabo mediante el método descrito por (Hurtado *et al.*, 2015), el cual consiste en sembrar en una microplaca 100 µl de L-lisina al 0.2% y 100 µl de hemolinfa (muestra de cada ostión). Después se dejara reposar 15 minutos la L-lisina con la hemolinfa y posteriormente se centrifugó a 300 x g durante 10 minutos. Se descartara con cuidado el sobrenadante de cada orificio de la microplaca y se agregararan 50 µl de Nitroblue tetrazolium y 100 µl de solución salina de Hanks A continuación se agregarán 50 µl de NBT y 100 µl de laminarina a cada orificio, llevándose a cabo por triplicado en cada ostión, Después de 30 minutos se descartara el sobrenadante de la mezcla y se agregaran 100 µl de MeOH (Metanol) al 22, 100% y se retirara el sobrenadante, para después agregar 100 µl de MeOH al 70% y descartar de nuevo el sobrenadante. A continuación se secura la microplaca con pistola de aire, una vez seca se agregaran 120 µl de KOH (Hidróxido de potasio) y 140 µl de Dimetil sulfóxido, finalmente se cuantificara la actividad en un lector de microplacas (Imark, Bio-Rad, U.S.A) a 650 nm. A partir de las lecturas se determinaran las unidades de absorbancia (U.A.), calculando la media del triplicado que se realizaran para cada ostión; el valor resultante, se deberá dividir entre los hemocitos utilizados en cada muestra, la cual se obtendrá a partir de la cantidad de hemolinfa y concentración total de hemocitos para cada organismo.

Análisis Histopatológicos de Glándula digestiva

Los organismos serán inyectados con solución de Davidson (Bell y Lightner, 1988) y se colocaran en la misma solución Davidson por 24 h. Posteriormente los tejidos serán deshidratados en una serie ascendente de etanol (70% a 100%), aclarados con xileno, e infiltrados en parafina. Enseguida se incluirán en parafina líquida a 62°C enfriado a -5°C. Se realizaran cortes histológicos de 4 µm de espesor en un micrótopo de rotación, para después colocarlos en portaobjetos. Los tejidos serán teñidos con Hematoxilina de Harris-eosina y montados en resina sintética con cubreobjetos. Finalmente, las preparaciones histológicas fueran observadas bajo el microscopio óptico compuesto con objetivos 4, 10, 20, 40 y 100x (Hurtado-Oliva *et al.*, 2015). Se evaluara las lesiones de manera cualitativa en la que se realizara una comparación de los tejidos de los organismos sanos con los de los tejidos expuestos a los dinoflagelados, Además de una evaluación semi-cuantitativa donde se determinara la prevalencia de los daños y/o alteraciones de acuerdo con el método utilizado por (Flores-Chavarría, 2018), donde:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No de campos con presencia de daños}}{\text{No de campos observados}} \times 100$$

Estableciendo un grado de daño desde 0 para las muestras que no presentan alteraciones en el tejido, hasta 3 para las que presentan mayor daño.

Los datos serán analizados a través de un análisis de varianza de dos vías, utilizando como variables independientes el tiempo de exposición y la especie de microalga tóxica, mientras que las variables dependientes son el conteo total y diferencias de hemocitos, la mortalidad de

hemocitos, fagocitosis y producción de ROS. Los valores en porcentaje serán transformados a la función arcoseno, previo al análisis. La proporción de la prevalencia o alteraciones que se identifiquen en las imágenes histológicas obtenidas de las glándulas digestivas de los ostiones se analizarán a través de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

LITERATURA CITADA

Aranda-Cirerol, N. (2004). Eutrofización y calidad del agua de una zona costera tropical. Barcelona, España. 230p.

Campa-Córdova, A. I., Hernández-Salmerón, A., Ascencio-Valle, F., & Aguirre-Guzmán, G. (2010). Respuesta inmune y antioxidante en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, expuesto a inmunoestimulantes y probióticos. Avances en Nutrición Acuícola X, 567-587. ISBN 978-607-433-546-0.

Campa-Córdova, A. I., Luna-González, A., Mazón-Suastegui, J. M., Aguirre-Guzmán, G., Ascencio, F., & González-Ocampo, H. A. (2011). Efecto de bacterias probióticas en el cultivo larvario del ostión de placer *Crassostrea corteziensis* (Bivalvia: Ostreidae). Rev. Biol. Trop, 183-191. ISSN-0034-7744

Cheng, T., & Sullivan, J. (1984). Effects of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes. Marine Environmental Research., 305-315. DOI.[doi.org/10.1016/0141-1136\(84\)90084-9](https://doi.org/10.1016/0141-1136(84)90084-9).

Estrada-Muñoz, N. A. (2005). Efecto de las toxinas paralizantes (PSP) del dinoflagelado *Gymnodinium catenatum*, (Dinophyceae) en el sistema de defensa de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Mollusca:Pectinidae). Tesis de maestría. Centro de investigación de Ciencias Biológicas. La Paz, BCS, México. 156 pp.

Flores-Chavarria, A. M. (2018). Alteraciones en tejidos y concentración de toxinas producidas por *Gymnodinium catenatum* en juveniles de camarón (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de maestría. Centro de Investigaciones de Ciencias Biológicas. La Paz, BCS. México. 146 pp.

Fraga-Rivas, S. (2014). Caracterización taxonómica y ecológica de especies crípticas o pseudocrípticas de dinoflagelados nocivos. Tesis de doctorado. España. Universidad de Vigo. 210 pp.

Guzman-Bustillos, J., Band-Schmidt, C., Lopez-Cortez, D., Garate-Lizarraga, I., & EJ, N.-V. (2012). Variations in growth and toxicity in *Gymnodinium catenatum* Graham from the Gulf of California under different ratios of nitrogen and phosphorus. Ciencias Marinas, 101-117

Hurdado, M. A., Ramirez, J. L., Rodríguez-Jaramillo, Tovar, D., Ibarra, A. M., Soudant, P. Elena. (2009). Comparison of continuous and batch feeding systems on maturation, biochemical composition and immune variables of the oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein 1951). Aquaculture Research, 464-472. DOI.[doi:10.1111/j.1365-2109.2008.02117.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02117.x)

Hurtado, M. A., Da Silva, P. M., Le Goic, N., Palacios, E., & Soudant, P. (2011). Effect of acclimatization on hemocyte functional characteristics of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)

and carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*). Fish y Shellfish Immunology, 978-984. DOI: 10.1016/j.fsi.2011.08.016

Hurtado, M. A., Reza, M., Ibarra, A. M., Wille, M., Sorgeloos, P., Soudant, P. Elena. (2009). Arachidonic acid (20:4n-6) Effect on reproduction, immunology, and prostaglandin E2 levels in *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951). Aquaculture, 300-305. DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.06.009

Hurtado-Oliva, M.A., Gómez- Hernández, J.S y Gutiérrez-Rivera, J.N. (2015). Gender differences and short-term exposure to mechanical, thermic, and mechanical—thermic Stress conditions on hemocyte functional characteristics and Hsp70 Gene expression in oyster *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951). Journal of Shellfish Research. 849–859, DOI: doi.org/10.2983/035.034.0314.

Ibarguen-Zamudio, J. (2006). “Composición, variación y abundancia de las comunidades fitoplanctónicas en tres lagunas costeras del estado de Sinaloa, México, periodo 2004-2005”. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de Mazatlán, México. 105 pp

Kasim, M., & Mukai, H. (2009). Food sources of the oyster (*Crassostrea gigas*) and the clam (*Ruditapes philippinarum*) in the Akkeshi-ko estuary. Plankton Benthos Research, 104–114. DOI. doi.org/10.3800/pbr.4.104

Moreira-González, Á. (2013). *Prorocentrum mexicanum* Osorio-Tafall y *Prorocentrum rhathymum* Loeblich III, Sherley & Schmidt cohabitan en aguas cubanas. Revista de investigacion marina. ISSN. 1991-6089

Ovalle-Torres, B. S. (2015). Variaciones estacionales en la respuesta inmunológica del ostión de placer *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951). Tesis de maestría. Facultad de Ciencias del mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 70 pp.

Sun, J., Wu, X., & Zhan, W. (2006). Morphological, structural and functional characteristics of the hemocytes of the oyster, *Crassostrea ariakensis*. Journal of Shellfish Research, 55–64. DOI. [doi.org/10.2983/0730-8000\(2006\)25\[55:MSAFCO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2006)25[55:MSAFCO]2.0.CO;2)

EFECTO DE LA RELACIÓN C/N Y VELOCIDAD DE AIREACIÓN EN EL COMPOSTAJE DE GALLINAZA

Sarahi de Jesús Heras Sierra

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

Sarahi de Jesús Heras Sierra, Jesús José Portillo Loera¹, Horacio Dávila Ramos¹, Noelia Castro del Campo², Juan Martín Parra Delgado³

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,-Universidad Autónoma de Sinaloa

sarahiheras@uas.edu.mx

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Unidad Culiacán.

³Facultad de Agronomía-Universidad Autónoma de Sinaloa

RESUMEN

La avicultura es una de las industrias de más rápido crecimiento en el mundo, existen una creciente demanda de carne y huevo, principalmente debido a la aceptación que tiene en la sociedad por las características proteicas que presenta, México cuenta con una población de 202, 154,677 gallinas de postura y Sinaloa registra una población de 4, 964,000 de gallinas. Sin embargo no solo se producen productos para alimentación humana sino que diariamente se producen 100 g de excretas por gallina, este residuo es importante gracias a las características que presenta (nitrógeno 3.8%, carbono 39.9%, materia orgánica 71.9%, humedad 74.53%, antioxidantes, dioxinas, hormonas, *Actinomyces*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, etc). El compostaje es una opción fiable del tratamiento de residuos y es útil en la reducción de los efectos adversos al medio ambiente, el compostaje implica el uso de relaciones de mezcla correctas, (proporción C/N), velocidad de aireación, contenido de humedad, tamaño de partícula, grado de compactación, temperatura y pH. El objetivo de este estudio es determinar el efecto de la relación C/N y velocidad de aireación en los indicadores del proceso de compostaje de gallinaza. Materiales y métodos: se utilizaron cuatro tratamientos a razón de 27:1 relación C/N y cantidades de oxigenación; (T1=gallinaza + paja de maíz+ 0.0 L min⁻¹ kg⁻¹ MO), (T2=gallinaza + paja de maíz+ 0.1 L min⁻¹ kg⁻¹ MO), (T3=gallinaza + paja de maíz+ 0.3 L min⁻¹ kg⁻¹ MO) y (T4=gallinaza + paja de maíz+ 0.5 L min⁻¹ kg⁻¹ MO).

Palabras clave: Compostaje, gallinaza, relación C/N, aireación forzada, paja de maíz.

ABSTRACT

Poultry farming is one of the fastest growing industries in the world, there is an increasing demand for meat and eggs, mainly due to the acceptance it has in society for the protein characteristics it presents, Mexico has a population of 202, 154,677 laying hens and Sinaloa records a population of 4,964,000 hens. However, not only produce products for human consumption but daily 100 g of excreta per hen are produced, this waste is important thanks to the characteristics it presents (nitrogen 3.8%, carbon 39.9%, organic matter 71.9%, humidity 74.53%, antioxidants, dioxins, hormones, *Actinomyces*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, etc). Composting is a reliable choice of waste treatment and is useful in reducing adverse effects to the environment, composting involves the use of correct mixing ratios, (C/N ratio), aeration rate, moisture content, particle size, degree of compaction, temperature and pH. The objective of this

study is to determine the effect of the C / N ratio and aeration rate on the indicators of the composting process of chicken manure. Materials and methods: four treatments will be used at a ratio of 27: 1 C / N ratio and different amounts of oxygenation; (T1 = poultry litter + corn straw + 0.0 L min⁻¹ kg⁻¹ MO), (T2 = poultry litter + corn husk + 0.1 L min⁻¹ kg⁻¹ MO), (T3 = poultry litter + corn husk + 0.3 L min⁻¹ kg⁻¹ MO) and (T4 = poultry litter + corn straw + 0.5 L min⁻¹ kg⁻¹ MO).

Keywords: Composting, manure, C/N ratio, forced aeration, corn straw.

INTRODUCCIÓN

El incremento el tamaño de la explotaciones pecuarias, conlleva a que una gran cantidad de animales estén concentrados en un espacio reducido, así como el creciente desarrollo de la población en las zonas urbanas en áreas cercanas a la explotaciones ganaderas, incrementando el riesgo de contaminación por excretas de animales en confinamiento hacia los humanos (Arikan, Mulbry y Rice, 2016).

El estiércol animal es un recurso valioso como fertilizante para el suelo ya que proporciona nutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, calcio, sodio, magnesio, hierro, manganeso, zinc, cobre entre otros) al suelo además es considerado como una alternativa ecológica para el crecimiento de los cultivos por su bajo costo y en la nutrición de los cultivos agrícolas (Hutchison *et al.*, 2005), las sustancias que contiene influyen directamente en las propiedades del suelo (agregación, disolución de minerales, ciclos bioquímicos de los elementos, formación y estabilidad de la estructura y constituye una fuente de alimento para los microorganismos que habitan en el suelo. La industria avícola es una de las industrias de más rápido crecimiento en el mundo, existen una creciente demanda de carne y huevo, principalmente debido a la aceptación que tiene en la sociedad por las características proteicas que presenta, México cuenta con una población de gallinas de postura de 202, 154,677 mientras que Sinaloa se registra una población de 4, 964,000 de gallinas, sin embargo no solo se producen productos para alimentación humana si no que diariamente se producen 100 g de excretas por gallina, que contiene significativos porcentajes de proteína, materiales lignocelulósicos y resulta de la mezcla de las deyecciones, plumas, residuos de alimentos y huevos rotos que caen al suelo; a esta acumulación de materia se le denomina gallinaza (Piad, 2001). La composición de este residuo es representado principalmente por nitrógeno 3.8%, fósforo 0.65%, potasio 3.79 %, calcio 7.37 %, magnesio 0.96%, carbono 39.9% y materia orgánica 71.9%; contiene 74.53% de humedad, pH 7.18, CE 5.69 dS/m, relación C/N 6:01, (Czekala *et al.*, 2016) además contiene xantofilas, antibióticos, antiprotzoarios, antioxidantes, inhibidores de moho, probióticos, fenoles policlorados, dioxinas, hormonas y bacterias *Actinomycetes*, *Clostridia/ Eubacteria*, *Bacilli / lactobacilli* así como bacterias patógenas *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* y *Clostridium perfringens* (Lu *et al.*, 2003). La utilidad que tiene este compuesto actualmente es como ingrediente en las dietas para animales en engorda, sustrato para la generación de metano y para la síntesis de proteína microbiana, larvas de insectos y como abono al suelo, siendo esta la opción más ventajosa para su empleo y se considera una forma de reciclaje natural por su bajo costo, ya que su alto aporte de materia orgánica al suelo proporciona aumento en la capacidad de retención de agua, y es una fuente muy rica en elementos nutritivos para las plantas ((Quiroga *et al.*, 2010). Sin embargo el uso de gallinaza fresca, produce efectos adversos como eutrofización de las aguas superficiales por lixiviación, contaminación de las aguas subterránea, compactación, erosión del suelo, y emisión de gases (amoníaco, metano, sulfuro de hidrógeno, monóxido de carbono, dióxido de carbono, ácidos

orgánicos volátiles) que se generan al año en más de 439.5 t. Por lo cual es importante resaltar el impacto de contaminación. Por lo que el compostaje es una opción fiable del tratamiento de residuos que es útil en la reducción de los efectos adversos al medio ambiente que emiten los residuos generados por las deyecciones de las granjas avícolas y se considera un proceso continuo que reduce las sustancias orgánicas en volúmenes más pequeños (Liu *et al.*, 2011). Entre las diversas técnicas de reciclado el compostaje ha ganado una gran popularidad debido a sus beneficios asociados, tales como la higiene de los residuos, la rentabilidad y la conversión de los desechos en productos de valor agregado (Ounia *et al.*, 2014). El compostaje es un proceso bioquímico y heterogéneo que implica mineralización de materia orgánica, resultando en un producto final estabilizado con toxicidad reducida (Bernal, Albuquerque and Moral, 2009), constituye una serie de técnicas hacia los residuos orgánicos con un tratamiento que está en total acuerdo con la agricultura sostenible, esto ocurre en condiciones naturales o controladas que implican la descomposición de la materia orgánica en un producto útil (Composta) a través de actividades microbianas (Guo *et al.*, 2012), no obstante, estos méritos del compostaje sólo pueden lograrse si el proceso se gestiona eficazmente (Storino *et al.*, 2016), esto implica que debe haber planificación durante el compostaje para producir productos útiles y de valor agregado (Zhou *et al.*, 2017). La operación exitosa implica la optimización de los diversos parámetros del proceso: mezcla correctas tales como agentes de carga (relación C/N) (Borowski, Domański y Weatherley, 2014), velocidad de aireación, contenido de humedad, tamaño de partícula, grado de compactación, temperatura y pH.

Para que el proceso de compostaje se desarrolle correctamente es más importante conseguir un equilibrio entre los diferentes nutrientes, especialmente entre el nitrógeno (N) y el carbono (C), que un determinado contenido de ellos (Farah Nadia *et al.*, 2015), por lo cual la primera relación carbono-nitrógeno (C/N) es el parámetro más utilizado para decidir la metodología de compostaje, estos dos elementos deben encontrarse en una proporción adecuada para evitar que el proceso de compostaje sea más lento (Farah Nadia *et al.*, 2015), (Gao *et al.*, 2010) menciona valores óptimos entre 25:1 y 35:1 al inicio, pues se considera que los microorganismos utilizan de 15 a 30 partes de carbono por 1 parte de nitrógeno, y medida que el proceso de compostaje progresa la relación C/N incrementa, esto puede explicarse debido a la volatilización del NH_3 que normalmente ocurre en el compostaje de estiércoles animales. Las proporciones relativas de C en el estiércol y modificaciones en las formulaciones del compostaje afectan la respuesta metabólica de la microflora en el compostaje y a su vez la supervivencia de patógenos zoonóticos.

(Borowski, Domański y Weatherley, 2014) indican que relaciones C/N de 40:1 y superiores, conducen a actividades microbianas elevadas y la generación de calor durante etapas iniciales del compostaje, pero se disminuye la actividad microbiana, el calor aumenta y el nitrógeno se hace limitante, por otra parte relaciones C/N cerca de 20:1, no se utilizan los hidratos de carbono unido complejos ya que es insuficiente para estabilizar toda la producción de amoníaco y que si la relación carbono/nitrógeno es alta son utilizadas para evitar la pérdida de nitrógeno y cuando la relación es baja se produce una pérdida de nitrógeno.

(Chowdhury, de Neergaard and Jensen, 2014) consideran que otros factores que favorece la volatilización del NH_3 son iniciar con una baja relación C/N y velocidad en el suministro de aire, la presencia de oxígeno es imprescindible para que se desarrolle el proceso en condiciones aerobias, cuando el oxígeno (O_2) suministrado es insuficiente, la actividad microbiana en el compostaje se deteriora, la materia orgánica no se degrada por completo, muchos micrositios anaeróbicos se forman de la pila de compostaje y las emisiones de gases como el metano y sulfuro de hidrógeno se

incrementan al reaccionar con el resto de los factores, a diferencia de cuando la aireación es excesiva, la intensidad de la energía aumenta y el proceso de auto calentamiento se ve impedido, lo que reduce el número de patógenos que se puedan eliminar (Chen *et al.*, 2015). Las funciones básicas de la aireación son las siguientes, suministrar el oxígeno necesario para permitir la actividad de los microorganismos aerobios, favorecer la regulación del exceso de humedad por evaporación, mantener la temperatura adecuada, incrementar la actividad de los microorganismos, lo que genera un desprendimiento de energía y como consecuencia, un incremento de la temperatura, favorecer el enfriamiento al renovar el aire caliente por frío (Shen *et al.*, 2011). Es importante que la cantidad de aireación sea administrado en el nivel adecuado para llevar a cabo el proceso de compostaje eficientemente, Gao (2010), menciona que las excretas avícolas deben compostarse con aireación continua e intermitente de $0.5 \text{ L min}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ MO}$ como intervalo óptimo de velocidad de aireación debido a la disimilitud del material en el proceso compostaje y (Chowdhury, de Neergaard and Jensen, 2014), menciona que el valor optimo es $0.1 \text{ L min}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ MO}$ con intervalos de 30 minutos de aireación para un buen compostaje de excretas avícolas. Sin embargo se requieren más estudios y el diseño de una estrategia que cumpla con la demanda de O_2 de los microorganismos con la mayor precisión posible y que se mejore la eficiencia y la degradación de la calidad de la composta. Por lo cual el objetivo de investigación será evaluar de la velocidad de aireación y proporciones relación C/N en compostaje de gallinaza.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

De acuerdo a las características químicas, composición bromatológica que presentan la gallinaza y a las operaciones de producción que son inadecuadas, la descarga de nutrientes, materia orgánica, patógenos y emisión de gases a través de los desechos generan contaminación del agua, aire y suelo, la industria avícola generan desechos orgánicos que se presenta en cantidades suficientes y generan consecuencias ambientales, por lo cual la gallinaza debe ser sometida a procesos de descomposición por técnicas de compostaje aeróbico con una planificación antes y durante el proceso de compostaje para producir productos útiles.

HIPÓTESIS

La relación C/N 27:1 y $0.3 \text{ L min}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ MO}$ favorece el proceso de compostaje medido a través de la temperatura, pH, conductividad eléctrica, reducción de volumen y nitrógeno.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la relación C/N y velocidad de aireación en los indicadores del proceso de compostaje de gallinaza.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del Lugar de Trabajo

El trabajo experimental se llevará a cabo en la Unidad Avícola Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa, México ($24^{\circ} 46' 13'' \text{ LN}$ y $107^{\circ} 21' 14'' \text{ LO}$); clima considerado semiseco, muy cálido, con lluvias en verano, temperatura promedio de 25.9°C , humedad relativa promedio de 68% y la precipitación anual es de 688.5 mm en promedio (CIAPAN, 2002).

Elaboración de pilas de compostaje

Se construirán pilas de compostaje con aireación forzada, cada composta tendrá las siguientes características: 5.2 m de largo, 2.5 m de ancho y 1.4 m de alto, con una pendiente del 1 %. Se colocará una membrana de polietileno en la base de cada pila para controlar el volumen del material, evitar la lixiviación e infiltración de humedad del suelo, el plástico alcanzará a cubrir el material por la parte superior, manteniendo la temperatura del sistema, evitando pérdida de agua por evaporación y disminuyendo la pérdida de nitrógeno orgánico.

Preparación de las compostas

Se utilizarán mezclas a razón de 500 kg de gallinaza con proporciones de paja de maíz (compostas) en diferentes tamaño de partículas de 3 a 6 cm utilizados como agentes de carga en relación C/N 27:1, se utilizarán cuatro tratamientos a razón de 27:1 relación C/N y diferentes cantidades de oxigenación; (T1=gallinaza + paja de maíz+ 0.0 L min⁻¹ kg⁻¹ MO), (T2=gallinaza + paja de maíz+ 0.1 L min⁻¹ kg⁻¹ MO), (T3=gallinaza + paja de maíz+ 0.3 L min⁻¹ kg⁻¹ MO) y (T4=gallinaza + paja de maíz+ 0.5 L min⁻¹ kg⁻¹ MO).

Evaluación del proceso de compostaje

Se medirá la humedad del compostaje y será controlada semanalmente, se ajustarán mediante la adición de la cantidad necesaria de agua para mantener los niveles del 55%.

Para la variable temperatura se medirá diariamente durante el proceso de compostaje con un termómetro de 1.5 m marca Reoteamp.

Se tomarán muestras cada semana hasta concluir todas las etapas de compostaje , serán tomadas a partir de cuatro lugares diferentes de cada composta: la parte superior (130 cm desde la base de la pila), media (75 cm de la base de la pila), inferior (30 cm de la base de la pila), y superficie (5 cm de la superficie de la pila), las muestras se secarán en estufa a 75 °C centígrados y serán molidas hasta 0,25 mm para el análisis químico, donde se analizarán las variables pH, CE, Nitrógeno Total, carbono orgánico, materia orgánica, fósforo y potasio.

Para evaluar el suministro de oxígeno se realizará mediante aireación forzada (AF) que se llevará a cabo dentro de la pila, se instalará una red de tubos PVC hidráulico de cuatro pulgadas de diámetro, unidos entre sí, con una entrada que permita acoplarse a un soplador de 1.4 de HP a una altura de 50 cm sobre el primer tendido de material a compostear, los tubos tendrán perforaciones de 5 mm de diámetro, a una distancia de 10 cm entre ellos, y asegurarán la circulación del aire por toda la tubería, durante el periodo de compostaje, se suministrará diariamente dos veces aire a la pila por 20 min, dejando un espacio de 30 min entre cada aireación.

LITERATURA CITADA

- Arikan, O. A., Mulbry, W. and Rice, C. (2016) 'The effect of composting on the persistence of four ionophores in dairy manure and poultry litter', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 54, pp. 110–117. doi: 10.1016/j.wasman.2016.04.032.
- Bernal, M. P., Albuquerque, J. A. and Moral, R. (2009) 'Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review', *Bioresource Technology*, 100(22), pp. 5444–5453. doi: 10.1016/j.biortech.2008.11.027.
- Borowski, S., Domański, J. and Weatherley, L. (2014) 'Anaerobic co-digestion of swine and

- poultry manure with municipal sewage sludge', *Waste Management*. doi: 10.1016/j.wasman.2013.10.022.
- Chen, Z. et al. (2015) 'Effect of aeration rate on composting of penicillin mycelial dreg', *Journal of Environmental Sciences (China)*. doi: 10.1016/j.jes.2015.03.020.
- Chowdhury, M. A., de Neergaard, A. and Jensen, L. S. (2014) 'Potential of aeration flow rate and bio-char addition to reduce greenhouse gas and ammonia emissions during manure composting', *Chemosphere*. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.10.030.
- Farah Nadia, O. et al. (2015) 'Investigation of physico-chemical properties and microbial community during poultry manure co-composting process.', *Journal of environmental sciences (China)*, 28, pp. 81–94. doi: 10.1016/j.jes.2014.07.023.
- Gao, M. et al. (2010) 'The effect of aeration rate on forced-aeration composting of chicken manure and sawdust', *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2009.10.027.
- Guo, R. et al. (2012) 'Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost', *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2012.02.099.
- Liu, D. et al. (2011) 'Changes in biochemical and microbiological parameters during the period of rapid composting of dairy manure with rice chaff', *Bioresource Technology*. doi: 10.1016/j.biortech.2011.07.052.
- Lu, J., Sanchez, S., Hofrace, C., Maurer, J.J., Harmon, B. And Lee, M.D. Evaluation of broiler litter with reference to the microbial composition as assessed by using 16S rRNA and functional gene markers. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 901-908. 2003
- Ounia, Y., Albaceteb, A., Canterob, E., Lakhdara, A., Abdellya, C., 1088 Pérez-Alfoceab, F., Barhoumia, Z., 2014. Influence of municipal 1089 solid waste (MSW) compost on hormonal status and biomass 1090 partitioning in two forage species growing under saline soil 1091 conditions. *Ecol. Eng.* 64 142–150
- Piad, R. 2001. Evaluación de la actividad probiótica de un hidrolizado enzimático de crema de destilería en pollitas de reemplazo de ponedoras. Tesis Dr. Ciencias. Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. 56 p
- Quiroga, G. et al. (2010) 'Physico-chemical analysis and calorific values of poultry manure', *Waste Management*. doi: 10.1016/j.wasman.2009.12.016.
- Shen, Y. et al. (2011) 'Influence of aeration on CH₄, N₂O and NH₃ emissions during aerobic composting of a chicken manure and high C/N waste mixture', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 31(1), pp. 33–38. doi: 10.1016/j.wasman.2010.08.019.
- Wojacech Czekala, krystina Malinka, Rafael Caceres, Damian Janezack, jacek Ladach, Andres Lewicki. 2016, Co-composting of poultry manure mixture amended with biochar- The effect of biochar on temperature and C-CO₂ emission *Bioresource Technology* 200: 921-927- 924. 2016
- Zhou, J. et al. (2017) 'Role and multi-scale characterization of bamboo biochar during poultry manure aerobic composting', *Bioresource Technology*, 241, pp. 190–199. doi: 10.1016/j.biortech.2017.03.144.

BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL VIRUS HUASTECO VENA AMARILLA DEL CHILE EN POBLACIONES SILVESTRES Y CRIOLLAS DE CHILE (*Capsicum* spp.).

Elida Concepción González López¹, José Antonio Garzón Tiznado², Sergio Hernández Verdugo³, Jesús Enrique Retes Manjarrez⁴, Sixto Velarde Félix⁵.

¹Estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias (Facultad de Agronomía-UAS), ²Director de tesis (Colegio de Ciencias Agropecuarias-UAS), ³Codirector (Colegio de Ciencias Agropecuarias -UAS), ⁴Asesor (Facultad de Agronomía-UAS), ⁵Asesor (INIFAP)
elida_1989@hotmail.com.

RESUMEN

El virus huasteco vena amarilla del chile (PHYVV) es uno de los principales agentes fitopatógenos que limitan la producción del cultivo del chile (*Capsicum* spp.) en México. Se sembraron 11 poblaciones de chile silvestre y 34 de chile criollo para observar la resistencia a PHYVV y su influencia en los cambios morfológicos en la planta. Para la fuente de infestación se colectaron insectos adultos de mosca blanca. Para la fuente de inóculo se colectaron púas de plantas de chile cultivar Grande[®], que manifestaban síntomas causados por PHYVV y se injertaron en plantas de chile cultivar Maverick[®]. Las plantas injertadas fueron mantenidas en jaulas entomológicas de madera. Se identificó a PHYVV mediante el método de PCR usando los iniciadores 240 y 241. Las variables de estudio fueron altura de planta, diámetro de tallo, largo y ancho de hoja, días a floración, días a los primeros síntomas, nivel de daño, número de frutos por planta, número de semillas por fruto, peso de semilla, número de semilla por planta, peso de semilla por planta. En nivel de daño presentaron una media entre 3.89 y 9.00, en días a los primeros entre 7.33 y 78.78 días, en altura de planta las poblaciones entre 15.83 y 55.17cm, para diámetro de tallo entre 3.66 y 7.23 mm, para largo de hoja entre 18.81 y 77.78 mm y para ancho de hoja entre 14.49 y 48.30 mm.

ABSTRACT

The huasteco virus yellow vein of pepper (PHYVV) is one of the main phytopathogenic agents that limit the production of chili (*Capsicum* spp.) In Mexico. Eleven populations of wild chili and 34 of creole pepper were planted to observe the resistance to PHYVV and its influence on the morphological changes in the plant. For the source of infestation adult insects of white fly were collected. For the inoculum source, pickles were harvested from Grande[®] chilli plants, which showed symptoms caused by PHYVV and were grafted on Maverick[®] chilli plants. The grafted plants were kept in entomological wooden cages. PHYVV was identified by the PCR method using primers 240 and 241. The study variables were plant height, stem diameter, leaf length and width, days at flowering, days at first symptoms, level of damage, number Of fruits per plant, number of seeds per fruit, seed weight, seed number per plant, seed weight per plant. In terms of damage, they presented a mean between 3.89 and 9.00, in days to the first between 7.33 and 78.78 days, in plant height the populations between 15.83 and 55.17 cm, for stem diameter between 3.66 and 7.23 mm, for leaf length between 18.81 and 77.78 mm and for sheet width between 14.49 and 48.30 mm.

INTRODUCCIÓN

El virus huasteco vena amarilla del chile (PHYVV) es uno de los principales agentes fitopatógenos que limitan la producción del cultivo del chile (*Capsicum* spp.) en México (Holguín-Peña *et al.*, 2007). Éste virus fue reportado por primera vez en el estado de Tamaulipas en el norte de México (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993). Se encuentra ampliamente distribuido en el país de México y en el sur de Estados Unidos de América (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Garzón-Tiznado *et al.*, 2002). El PHYVV pertenece al género *Begomovirus*, (Subgrupo III), familia *Geminiviridae* (Palmer y Rybicky, 1997). Su genoma bipartita es transmitido por *Bemisia tabaci* G y como principales hospederos se encuentran las plantas dicotiledóneas tales como *Capsicum* spp., *Solanum lycopersicum*, *Nicotiana* spp., *Physalis* spp., *Solanum rostratum*, *Cucurbita* spp., *Helianthus annuus*, *Datura* spp., *Carica papaya*, *Sorghum halepense* y *Melia azedarach* (Méndez-Lozano *et al.*, 2003; Garzón-Tiznado *et al.*, 2002). Los principales síntomas que causa PHYVV en plantas de chile son amarillamiento de las nervaduras, distorsión, mosaico amarillo y enrollamiento de hojas, detenimiento del crecimiento de la planta y reducción del rendimiento (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993).

El manejo de este *Begomovirus* está basado en aplicaciones directas de productos químicos contra los insectos vectores, las cuales no son totalmente efectivas, resultan costosas y peligrosas para el medio ambiente y la salud (Borah y Dasgupta, 2012). Una alternativa para el control de este patógeno es el desarrollo de cultivares resistentes para *Begomovirus* (Shankarappa *et al.*, 2008). Los parientes silvestres de plantas cultivadas son fuente de genes de resistencia a plagas y enfermedades y pueden contribuir a mejorar la calidad y cantidad de la producción agrícola (Harlan, 1976; Stalker, 1980; Williams, 1988; Burdon and Jarosz, 1989; Hernández-Verdugo *et al.*, 1998;). En el cultivo del chile (*Capsicum* spp.), Hernández-Verdugo *et al.* (2001); Retes-Manjarrez *et al.* (2016) reportaron fuentes de resistencia al Virus huasteco vena amarilla del chile (PHYVV) en chiles silvestres de *Capsicum annum* Var. *Glabriusculum* y Godínez-Hernández *et al.* (2001) en chiles criollos de *Capsicum chinense* respectivamente. Anaya-López *et al.* (2003) y García-Nería y Rivera-Bustamante, (2011) reportaron y caracterizaron la resistencia a infecciones mixtas de PepGMV y PHYVV en la accesión BG-3821 de *Capsicum chinense*.

OBJETIVO GENERAL

Identificar plantas resistentes a PHYVV en poblaciones silvestres de *Capsicum annum*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Detectar genotipos resistentes a *Capsicum annum* Var. *Glabriusculum* a PHYVV.
- 2.- Analizar la presencia del patógeno (PHYVV) en la fuente de inóculo y genotipos a evaluar.
- 3.- Analizar la expresión de los genotipos infectados con PHYVV.
- 4.- Detectar los genes resistentes a PHYVV en los genotipos a evaluar.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se estableció en un invernadero en la estación experimental de Vilmorin INC. Se seleccionó semilla de 11 poblaciones de chile silvestre y 34 poblaciones de chile criollo del Banco de Germoplasma del Laboratorio de Recursos Genéticos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su germinación se le aplicó un tratamiento con ácido giberélico a 1000 ppm en 1 L de agua destilada durante 30 h. La siembra se realizó el día

23 de septiembre de 2016 en charolas poliestireno de 200 cavidades con sustrato Peat-Moss y vermiculita. El trasplante se realizó en bolsas con diez kilogramos de suelo de aluvión, a una separación de 30 cm por bolsas, 1.80 m entre surco. Se utilizó un diseño de 3 bloques al azar con respecto a la población.

Para la fuente de inóculo se colectaron púas de plantas de chile cultivar Grande® (Seminis), que manifiesten síntomas causados por PHYVV y se injertaron en plantas de chile cultivar Maverick® (United Genetics) para la conservación del inóculo viral. Las plantas injertadas fueron mantenidas en jaulas entomológicas de madera a prueba de insectos (40 cm de largo, 40 cm de ancho por 60 cm de altura) y cubiertas con tela de organza. Como fuente de infestación se establecieron colonias libres del virus del insecto vector las cuales se colocaron en plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) en jaulas entomológicas de madera cubiertas con tela de organza y se mantuvieron durante 12 meses ya que se ha demostrado que *Gossypium hirsutum* L. no es hospedero de Begomovirus que infecte solanáceas (Czosnek *et al.*, 1993).

Se utilizó el método de inoculación por insecto 30 días después del trasplante, para esto se colocaran las moscas libres de virus en la fuente de inóculo de PHYVV (cultivar monet) en botellas de plástico durante 48 h para la adquisición del virus. En la inoculación se utilizó 20 moscas virulíferas por planta durante un periodo de transmisión de 48 h. Después del periodo de inoculación se eliminaron las moscas con el insecticida Imidacloprid (Confidor®, Bayer Crop Sciences).

Se identificó a PHYVV mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando los iniciadores 240 y 241. La extracción de ADN se realizó por el método reportado por Dellaporta *et al* 1983.; La secuencia obtenida se comparara con las de otros aislamientos de PHYVV registradas en el Gen Bank (NCBI).

Las variables de estudio serán días a los primeros síntomas, nivel de daño, altura de planta, diámetro de tallo, largo y ancho de hoja, número de frutos, peso por semilla, número de semillas por planta, peso de semillas por planta. Los datos obtenidos se analizaran con el programa estadístico JMP. Las diferencias entre medias de las poblaciones se determinaran por medio de un análisis de varianza. Las comparaciones se realizaran mediante la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

RESULTADOS

En todas las características hubo diferencia significativa entre las poblaciones ($<.0001$) (Cuadro 1). En nivel de daño presentaron una media entre 3.89 y 9.00, a población que más daño presento fue la de El Rosario, en días a los primeros síntomas presentaron una media entre 7.33 y 78.78 días, la población que tardo más días en presentar días después de la inoculación fue la de Timul, en altura de planta las poblaciones presentaron una media entre 15.83 y 55.17cm, la población donde se presentaron plantas más altas fue en la Zaculpan, para diámetro de tallo presentaron una media entre 3.66 y 7.23 mm, la población Baccatum 23 fue la que presento mayor grosor, para largo de hoja presentaron una media entre 18.81 y 77.78 mm y para ancho de hoja presentaron una media entre 14.49 y 48.30 mm, en estas últimas la población Baccatum 23 fue la que presento hojas más largas y anchas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Medias de las características vegetativas, nivel de daño y días a primeros síntomas en poblaciones silvestres y criollas de *Capsicum spp.*

POBLACION	NIVEL DE DAÑO	DPS	APL(cm)	DTA (cm)	LHO (mm)	AHO(mm)
Baccatum 23(9)	8.67 AC	22.67 CDEFGH	39.11 ABCDE	5.62 ABCDEFG	77.78 A	48.30 A
Baccatum 67(8)	8.88 AC	13.00 EFGH	26.88 BCDEF	7.25 AB	44.52 EFGHIJKLM	32.60 CDEFGHIJK
Baccatum 7(9)	9.00 A	10.56 GH	24.22 BCDEF	5.85 ABCDEFG	57.36 BCDEFGH	36.46 BCDEFGHIJ
Agua blanca(8)	8.00 ABC	18.88 DEFGH	33.25 BCDEF	5.81 ABCDEFG	56.41 BCDEFGHIJ	28.63 FGHJKLM
Anacleto centro 1ra sección(9)	5.78 BCDEFG	47.44 ABCDEFG	42.33 ABC	6.81 ABCD	61.21 ABCDE	37.75 ABCDEFGI
Anacleto centro 2da sección (9)	6.67 ABCDE	37.44 ABCDEFGH	35.89 BCDEF	6.96 ABC	72.78 AB	46.10 AB
Anacleto centro- 2da sección(9)	7.11 ABCDE	16.33 DEFGH	34.44 BCDEF	6.56 ABCDE	64.43 ABCD	43.45 ABC
Callejón la marisma(9)	8.56 ABC	16.56 DEFGH	41.00 ABCD	6.46 ABCDEF	59.60 BCDEF	28.35 FGHJKLM
Cedros(9)	8.67 AC	7.67 GH	39.67 ABCDE	5.60 ABCDEFG	40.56 HIJKLMN	27.02 GHIJKLM
Centro las arenitas (5)	9.00 ABC	8.60 DEFGH	34.20 ABCDEF	5.90 ABCDEFG	50.48 DEFGHIJKLM	25.60 GHIJKLM
Cerro San Martín(9)	2.67 HI	56.56 ABCD	31.06 BCDEF	5.55 ABCDEFG	56.60 BCDEFGH	39.40 ABCDEF
El coco (9)	8.89 A	11.56 GH	38.78 ABCDE	5.98 ABCDEFG	54.84 CDEFGHIJ	26.00 HJKL
El Limon(9)	4.67 DEFGH	55.78 ABCDE	23.00 CDEF	5.55 ABCDEFG	53.22 DEFGHIJK	35.80 BCDEFGHI
El panteón (27)	8.78 A	11.00 H	31.63 BCDEF	5.34 BCDEFG	52.94 DEFGHIJ	28.81 GHJKL
El Roble(9)	9.00 A	13.33 FGH	28.33 BCDEF	5.03 ABCDEFG	35.55 KLMN	26.69 GHJKLM
El Rosario(4)	9.00 ABC	8.50 DEFGH	20.75 BCDEF	4.62 ABCDEFG	18.81 N	14.49 M
La brecha(18)	8.56 A	9.00 H	35.78 BCDEF	6.26 ABCDE	51.88 DEFGHIJ	28.30 GHJKL
La brecha 2(9)	9.00 A	12.22 GH	31.67 BCDEF	4.71 CDEFG	53.06 DEFGHIJK	29.99 FGHJKL
La Higuera(9)	8.56 ABC	13.56 FGH	36.33 BCDEF	5.74 ABCDEFG	58.88 BCDEFG	28.91 FGHJKL
Lo de Vega(9)	9.00 A	7.33 GH	29.78 BCDEF	4.80 CDEFG	40.61 HIJKLMN	28.70 FGHJKLM
Montoza(8)	8.50 ABC	16.50 DEFGH	23.38 BCDEF	4.38 EFG	30.39 MN	21.60 KLM
Moté(7)	6.71 ABCDEF	23.29 BCDEFGH	26.50 BCDEF	5.56 ABCDEFG	37.01 JKLMN	23.33 JKLM
Nacajuca- Tucta(12)	6.92 ABCDE	32.08 BCDEFGH	39.42 ABCD	6.55 ABCDE	71.08 ABC	42.91 ABC
Paraíso-Poblado Madero (18)	6.00 BDEF	36.89 BCDEFGH	28.00 BCDEF	5.82 ABCDEF	56.71 DEF	36.39 BCDEFI
Poblado el Habanero(9)	7.67 ABCD	31.67 BCDEFGH	29.33 BCDEF	5.87 ABCDEFG	43.25 FGHJKLM	27.52 GHIJKLM
Presa El Mahone(9)	8.89 A	13.22 FGH	43.78 AB	5.33 ABCDEFG	47.69 DEFGHIJKLM	33.23 CDEFGHIJ
Presa Oviachi(3)	8.67 ABCD	9.00 BCDEFGH	25.00 BCDEF	5.25 ABCDEFG	34.99 FGHJKLMN	23.27 GHIJKLM

Ranchería El Habanero(9)	4.67 DEFGH	65.22 ² AB	36.44 BCDEF	6.89 ABCD	52.83 ³ DEFGHIJK	31.49 DEFGHIJK
Ranchería Habanero(9)	8.11 ABC	24.67 BCDEFGH	24.50 BCDEF	5.16 ABCDEFG	46.64 DEFGHIJKLM	27.06 GHIJKLM
Rancho canutillo(18)	8.94 A	11.28 GH	33.06 BCDEF	5.40 ABCDEFG	54.14 DEFGH	32.22 EFGHIJ
Rancho de Cabrera(6)	8.67 ABC	8.33 FGH	15.83 F	3.90 FG	32.92 LMN	23.01 JKLM
Resistente(9)	0.86 I	65.56 AB	22.00 DEF	4.63 CDEFG	43.24 FGHIJKL	20.16 LM
Suceptible(9)	8.00 ABCD	11.00 GH	20.39 EF	3.66 G	50.34 DEFGHIJKL	29.51 FGHIJKL
Tanque las arenitas(9)	8.33 ABC	16.78 DEFGH	38.56 ABCDE	6.17 ABCDEF	54.42 DEFGHIJ	25.86 HIJKLM
Timul(9)	2.89 GHI	78.78 A	32.67 BCDEF	6.25 ABCDEF	64.39 ABCD	42.52 ABCD
Tixmehuac(9)	4.22 EFGH	54.56 ABCDEF	26.67 BCDEF	5.73 ABCDEFG	50.37 DEFGHIJKL	37.88 ABCDEFGI
Yecorato(9)	8.67 AC	7.44 GH	32.67 BCDEF	4.58 DEFG	38.56 IJKLMN	25.95 HJKLM
Zacapoxtla(16)	7.13 ABCD	50.06 ABCDEF	22.66 EF	3.96 G	43.54 GHIJKLM	22.44 KLM
Zacualpan(9)	9.00 A	16.89 DEFGH	27.22 BCDEF	5.09 ABCDEFG	56.09 BCDEFGHI	28.27 FGHIJKLM
Zaculpan(18)	3.89 FGH	57.89 ABC	55.17 BCDEF	6.99 A	70.24 ABC	40.06 ABCDE
<i>F</i>	15.21	7.96	5.5806	4.8055	13.43	13.77
<i>P</i>	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$). El número de plantas se presenta entre paréntesis después del nombre de la población correspondiente.

CONCLUSIONES

Se identificaron tres poblaciones con valores menores de cuatro Cerro San Martín, Timúl, Zaculpan, que son consideradas como resistentes. Las poblaciones silvestres y criollas de México cuentan con una gran variabilidad genética para encontrar resistencia a PHYVV, la cual puede ser utilizada para programas de mejoramiento genético, por lo cual esta especie se convierte en un recurso genético muy valioso que se debe seguir estudiando para mejorar su uso y conservación. El método que se utilizó para inocular PHYVV, es un método confiable.

LITERATURA CITADA

- Anaya-López, J. L., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M., Garzón-Tiznado, J. A., Pons-Hernández, J. L., Guevara-González, R. G., Muñoz-Sánchez, C. I., Guevara-Olvera, L., Rivera-Bustamante, R. F., and Hernández-Verdugo, S., 2003. Resistance to geminivirus mixed infections in Mexican wild peppers. *HortScience* 38:251-255.
- Borah, B. K. and Dasgupta, I., 2012. Begomovirus research in India: a critical appraisal and the way ahead. *Journal of Bioscience* 37, 791–806.
- Brown, J.K., 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector-Begomovirus complexes. *Virus Research* 71:233-260.
- Burdon, J. J., and Jaraosz, A. M., 1989. Wild relatives as sources of disease resistance, p. 280-296. In: A. H. D. Brown, O. H. Frankel, D. R. Marshall and J. T. Williams (eds). *The use of plant genetic resources*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- García-Nerúa, M.A., and Rivera-Bustamante, R.F., 2011. Characterization of Geminivirus Resistance in an Accession of *Capsicum chinense* Jacq. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 24: 172–182.
- Garzón Tiznado, J. A. Acosta García, G., Torres Pacheco, I., González Chavira, M., Rivera Bustamante, R. F., Maya Hernández, V., Guevara González, R.G., 2002. Presencia de los Geminivirus, Huasteco del Chile (PHV), Texano del Chile Variante Tamaulipas (TPVT), y Chino del Tomate (VCdT), en los Estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 20, núm. 1, pp. 45-52 Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México.
- Garzón-Tiznado, J.A., Torres-Pacheco, I., Herrera-Estrella, L. and Rivera-Bustamante, R.F., 1993. Complete nucleotide sequence of pepper huasteco virus: analysis and comparison with bipartite geminiviruses. *Journal of General Virology* 74: 2225–2231.
- Harlan, J. R., 1976. Genetic resources in the wild relatives of crops. *Crop Science* 16:329-333.
- Harlan, J.R., 1971. Agricultural origins: centers and no centers. *Science* 174, 468-474.
- Hernández-Verdugo, S., A. P. Dávila, y K. Oyama., 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64: 65-84.
- Hernández-Verdugo, S., Guevara González, R.G., Rivera-Bustamante, R.F., Vázquez-Yanes, C., Oyama, K., 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum spp.*) Como recursos genéticos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 62, 171-181.

- Hernández-Verdugo, S., Guevara-González, R.G., Rivera-Bustamante, R.F., and Oyama, K., 2001. Screening wild plants of *Capsicum annuum* for resistance to *Pepper huasteco virus* (PHV): Presence of viral DNA and differentiation among populations. *Euphytica* 122:31-36.
- Holguín-Peña, R.J., Rivera-Bustamante, R.F., and Carrillo-Tripp, J., 2007. *Pepper golden mosaic virus* and related geminiviruses affecting tomato crops. In: Characterization, Diagnosis and Management of Plant Viruses. Vol. 3: Vegetable and Pulse Crops. G. P. Rao, P. L. Kumar, and R. huasteco virus in *Capsicum chinense* plants with resistance to in Mexican wild peppers. *Hort Science* 38:251-255.
- Kang, S., Kim, Y. H., Lee, H. J., Kim, B. J., Lim, K. J., y Lee, S. H., 2012. One-step identification of B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* based on intron variation of carboxylesterase 2, *Journal of Asia-Pacific Entomology*. doi:10.1016/j.aspen.2012.02.003.
- Martin, J.H., Mifsud, D., Rapisarda, C. 2000 The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. *Bull. Entomol. Res.* 90: 407-448.
- Méndez-Lozano, J., Torres-Pacheco, I., Fauquet, C.M., and Rivera-Bustamante, R. F., 2003. Interactions between geminiviruses in a naturally occurring mixture: *Pepper huasteco virus* and *Pepper golden mosaic virus*. *Phytopathology* 93:270-277.
- Palmer, E.K. and E.P. Rybicky., 1997. The use of geminiviruses in biotechnology and plant molecular biology with particular focus on mastreviruses. *plant science*. 129: 115–130.
- Perring, T. 2001. “The *Bemisia tabaci* species complex”, *crop protection*. 20:725-737.
- Shankarappa, K. S., Sriharsha, Rangaswamy, K.T., Aswathanarayana, D. S., Prameela, H. A., Kulkarni, R. S., Muniyappa, V., Rao, A. M. and Maruthi, M. N., 2008. Development of tomato hybrids resistant to tomato leaf curl virus disease in South India. *Euphytica* 164, 531–539.
- Stalker, H. T., 1980. Utilization of the wild species for crop improvement. *advances in agronomy*. 37: 717-724.
- Torres-Pacheco, I., Garzon-Tiznado, J. A., Brown, J. K., Becerra-Flora, A., and Rivera-Bustamante, R. F., 1996. Detection and distribution of geminiviruses in Mexico and the southern United States. *Phytopathology* 86:1186-1192.
- Williams, P.H., 1988. Screening for resistance to disease. In: A.H.D. Brown, O.H. Frankel, D.R. Marshal & J.T. Williams (Eds.), *The Use of Plant Genetic Resources*, pp. 335–364. Cambridge University Press. New York, USA.

PREVALENCIA DE *Haemonchus contortus* Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A CORDEROS DEL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA.

Jesús Daniel Solís Carrasco¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹, Nohemí Castro del Campo¹,

Idalia Enríquez Verdugo¹, Jaime Eleazar Borbolla Ibarra¹

Maestría en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

danielsolis84@gmail.com

RESUMEN

Los ovinos es una especie explotada en diferentes ámbitos de la producción, para el ser humano ha resultado ser una opción viable como recurso económico. Los ovinos son propensos a diferentes patógenos, destacando los parásitos, como el nematodo *Haemonchus contortus* ocasionando pérdidas por la morbilidad, mortalidad, escasa producción lana y baja calidad de carne. El clima predominante (temperatura, lluvia y humedad) y las prácticas de manejo en la crianza se consideran los principales factores que impulsan su distribución espacial y temporal de *H. contortus*. En relación a prevalencia, en India en 2015 se reportó el 55% de animales con *H. contortus* de 1200, en otro estudio en México en 2010 el 32% resultó positivos, en datos generales en Sinaloa, se retomó información del laboratorio de Parasitología de la FMVZ-UAS, del año 2018 de 150 muestras el 40.50% presento el parásito. En el presente documento se planteó que la prevalencia de *Haemonchus contortus* en corderos de Culiacán, Sinaloa, depende de los factores de riesgo época del año, sistema de producción y sexo. Cuyo objetivo es determinar la prevalencia de *Haemonchus contortus* relacionada a factores de riesgo en corderos. Se realizó en Culiacán, es un estudio observacional, se muestrearon 23 ranchos, en tres épocas del año, 380 muestras de heces por cada muestreo, solo de corderos, se procesaron por flotación en el laboratorio de Parasitología. Resultaron 126 animales positivos a *Haemonchus*, se concluye que se registra una considerable prevalencia del nematodo, es importante implementar el manejo en cuanto a sanidad, desparasitación programada.

ABSTRACT

The sheep is a species exploited in different areas of production, for the human being has turned out to be a viable option as an economic resource. The ovines are prone to different pathogens, highlighting the parasites, such as the nematode *Haemonchus contortus* causing losses due to morbidity, mortality, scarce wool production and low meat quality. The prevailing climate (temperature, rainfall and humidity) and husbandry management practices are considered the main factors that drive its spatial and temporal distribution of *H. contortus*. In relation to prevalence, in India in 2015 55% of animals were reported with *H. contortus* of 1200, in another study in Mexico in 2010 32% were positive, in general data in Sinaloa, information was retrieved from the Parasitology laboratory of the FMVZ-UAS, of the year 2018 of 150 samples the 40.50% presented the parasite. In this document it was stated that the prevalence of *Haemonchus contortus* in lambs of Culiacán, Sinaloa, depends on the risk factors of the season, production system and sex. The objective is to determine the prevalence of

Haemonchus contortus related to risk factors in lambs. It was carried out in Culiacán, it is an observational study, 23 ranches were sampled, in three times of the year, 380 samples of feces for each sample, only of lambs, were processed by flotation in the Parasitology laboratory. 126 animals were positive for *Haemonchus*, it is concluded that there is a considerable prevalence of the nematode, it is important to implement the management in terms of health, programmed deworming.

INTRODUCCIÓN

Las ovejas por lo general son más propensas a parasitismo gastrointestinal, debido a su alimentación en pastos contaminados con larva 3 de nematodos (Tariq *et al.*, 2008), entre los que destacan *Haemonchus contortus* (*H. contortus*) es un nematodo localizado en el abomaso, se alimenta de sangre de ovinos y caprinos, pero puede encontrarse en otras especies de rumiantes como bovinos (Getachew *et al.*, 2007), es un parásito gastrointestinal (Rinaldi *et al.*, 2015), de los más patógenos en ovejas (Besier *et al.*, 2016), su amplia distribución geográfica y resistencia contra las medidas de control antihelmínticas ha hecho esta especie una amenaza principal para la sostenibilidad de la ganadería de ovinos (Saccareau *et al.*, 2017), son más frecuentes durante la época de lluvia, con animales pastoreando en las primeras horas de la mañana (Mederos *et al.*, 2010), el clima predominante (temperatura, lluvia y humedad) y las prácticas de manejo en la crianza se consideran los principales factores que impulsan su distribución espacial y temporal de *H. contortus* (Rinaldi *et al.*, 2015). No obstante, la distribución espacial y temporal de *H. contortus* es heterogénea y depende de muchas variables diferentes que varían de un área a otra, incluso de una granja a otra (Musella *et al.*, 2011). Por lo cual, es importante monitorear la prevalencia y distribución de esta especie de helmintos para planificar mejor el control sostenible mediante el tratamiento dirigido y/o las estrategias de tratamiento selectivo (Kenyon *et al.*, 2009), además ocasiona pérdidas a través de la morbilidad, mortalidad, reducción de la tasa de conversión alimenticia, escasa producción de lana y baja calidad de la carne y por los costos incurridos en el tratamiento y control (Tramboo *et al.*, 2015). La prevalencia de *H. contortus* en animales en pastoreo es alta en zonas de climas tropicales de ambos hemisferios (O'Connor *et al.*, 2006), los animales jóvenes y hembras preñadas son más susceptibles a los helmintos a diferencia de los animales adultos debido a su estado nutricional y su bajo nivel de inmunidad (Diniz *et al.*, 2014). En lo que compete a datos sobre prevalencia, en India Tramboo *et al.* (2015) reportó el 55% de animales con *H. contortus* de un total de 1200, en otro estudio en México por Rojas *et al.* (2010) arrojó un 32% positivos de 219 muestreados, en datos generales en Sinaloa, se retomó información del laboratorio de Parasitología de la FMVZ-UAS, del año 2018 de 150 muestras el 40.50% presentó el parásito. En relación a investigación Gaxiola *et al.* (2010) reportó la frecuencia de 17.5 (21) % de *Haemonchus* de un total de 120 ovinos muestreados de sistema extensivo, de diferentes explotaciones de Culiacán, Sinaloa. Siguiendo esta temática, en un estudio retrospectivo el cual abarcó de 2008 a 2012, *Haemonchus* se presentó en un 22.55 (116) %, de un total de 516 muestras de ovinos (Castro *et al.*, 2012). Con respecto a el impacto económico inmediato, es mayor en sistemas de producción intensivos aunado a áreas endémicas y en lo que respecta a las pérdidas en los sistemas extensivos tradicionales, son proporcionalmente mayores cuando se maneja un número pequeño de animales, además con frecuencia se ven afectadas por periodos de mala nutrición, baja disponibilidad de alimento, resistencia a los antihelmínticos por

mencionar algunos (Vattaa y Lindberg, 2006). El objetivo de esta investigación es determinar la prevalencia de *Haemonchus contortus* relacionada a factores de riesgo en corderos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Haemonchus contortus ocasiona pérdidas a través de la morbilidad, mortalidad, reducción de la tasa de conversión alimenticia, escasa producción de lana y baja calidad de la carne y por los costos incurridos en el tratamiento y control.

HIPÓTESIS

La prevalencia de *Haemonchus contortus* en corderos del municipio Culiacán, Sinaloa, está asociada a los factores de riesgo época del año, sistema de producción y sexo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *Haemonchus contortus* relacionada a factores de riesgo en corderos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Relacionar factor de riesgo época del año asociado a la presencia de *Haemonchus contortus* en heces de corderos.

Relacionar factor de riesgo sistema de producción intensivo y extensivo asociado a la presencia de *Haemonchus contortus* en heces de corderos.

Asociar factor de riesgo sexo en relación a la presencia de *Haemonchus contortus* en heces de corderos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Se realizó en el municipio de Culiacán, Sinaloa, México (24o 46' 13" LN y 107o 21' 14" LO). La región se caracteriza por tener un clima BS1 (h') w(w)(e), se define como clima semiseco, muy cálido, con lluvias en verano, según la clasificación de Köppen y modificada por García (1988); con temperatura promedio anual de 25,9°C, máxima de 30,4°C en junio y julio, y mínima de 20,6°C en enero; la humedad relativa promedio es de 68%, con máxima de 81% en septiembre y mínima de 51% en abril; la precipitación anual promedio es de 688,5 mm (CIAPAN, 2002).

Tipo de estudio y tamaño de muestra

Es un estudio observacional transversal. Se muestrearon 23 ranchos de ovinos, de los cuales 13 integran la Asociación Ganadera Local Especializada de Criadores de Ovinos y Caprinos de Culiacán y 10 no son asociados. En Sinaloa se tenían registradas 162.213 cabezas ovinas, de las cuales 43.560 correspondían al municipio de Culiacán distribuidas en 125 Unidades de

Producción Ovina (UPO) (SIAP, 2013), por lo que la muestra representó el 18.4% de las UPO. El muestreo fue por conveniencia de 10 sindicaturas del municipio de Culiacán. Para el muestreo de los animales se consideró la cantidad de adultos y se muestreo la cantidad de corderos que representara el 10% de los adultos en cada rancho, ya que se desconoce el total de corderos, por el caso de los corderos vendidos y muertos. Se llevaron a cabo cuatro muestreos, los ovinos no siempre fueron los mismos. Se eligieron 1140 corderos (380 por muestreo) de edades de entre 1 día hasta 3 meses.

Recolección de muestras

Se registró información sobre los siguientes factores de riesgo: época del año, sistema de producción (intensivo y extensivo) de la UPO y sexo del cordero (hembra y macho).

Las heces se tomaron por enema en los corderos menores de 1 mes (m) y directamente en el recto con guante de látex en los animales de mayor edad, se identificaron individualmente, se refrigeraron en contenedores a 4°C con hielo y refrigerantes hasta su traslado al laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma de Sinaloa, donde se procedió al proceso y análisis de las muestras.

Análisis de laboratorio

La técnica utilizada para el diagnóstico *H. contortus* fue coproparasitoscópico mediante flotación de Faust (Zajac y Conboy, 2011). Se utilizó microscopio óptico con los objetivos de 10x y 40x, para la observación y detección.

Análisis estadístico

Todo ovino se consideró positivo con al menos un huevo de *Haemonchus contortus*. La prevalencia se estimó como el número de ovinos positivos entre el total de ovinos muestreados.

RESULTADOS

De acuerdo a los resultados se puede destacar que en invierno y primavera se encontró la mayor prevalencia *H. contortus* con un 13.15% y 12.10% respectivamente, por otra parte en la época del verano solo 30 resultaron positivas representando el 7.89%.

Cuadro 1. Prevalencia de *Haemonchus* por época del año en el municipio de Culiacán, Sinaloa.

Época del año	Animales muestreados	Positivos a <i>Haemonchus</i>	Negativos
Invierno	380	50 (13.15%)	330
Primavera	380	46 (12.10%)	334
Verano	380	30 (7.89%)	350

CONCLUSIÓN

Se concluye que se registró una considerable prevalencia del nematodo *Haemonchus contortus*, de manera global la prevalencia fue de un 11.05%, considerando que se muestrearon solo los corderos, esta fue alta, destacándose la temporada de primavera e invierno con mayor presencia del parásito, por ello es importante implementar el manejo en cuanto a sanidad, desparasitación programada y uso consciente de fármacos.

LITERATURA CITADA

- Besier R. B., Kahn L. P., Sargison N. D., Van Wyk J. A. 2016. The Pathophysiology, Ecology and Epidemiology of *Haemonchus contortus* Infection in Small Ruminants. *Haemonchus contortus* and Haemonchosis - Past, Present and Future Trends 93: 95-143.
- Castro del C. N., Enríquez V. I., Barraza T. C. L., Solís C. J. D., Badilla M. C. N, Cota G. S. C., Quintero O. I., Borbolla I. J. E., Rubio R. M. C., Romo R. J. A. 2012. Estudio retrospectivo en la frecuencia de parásitos gastrointestinales en ovinos de Culiacán, Sinaloa. IX Congreso Universitario de Ciencias Veterinarias. Puerto Vallarta, Jalisco.
- CIAPAN. 2002. Guía para la asistencia técnica del Valle de Culiacán. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Forestales y Pecuarias. Culiacán, Sinaloa, México. 92 pp.
- Diniz V. V., Ribeiro V. V. L., Ferreira F. T., Rodrigues A. A. C., Santos A. S., De Oliveira S. D. V., Libânio S. G., Bezerra M. L. R. 2014. Sheep gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Northeastern Brazil: prevalence and risk factors. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 23 (4): 488-494.
- Gaxiola C. S. M., Castro del C. N., Borbolla I. J. E., Cárcamo A. N. M., Cota G. S. C., Villalba R. J. E., Gaxiola M. J., Barraza T. C. L., Pérez C. J. A., Martínez T., Sosa G. C., Meza T. M. A., Mimiaga L. G., Rodríguez G. M. A. 2010. Frecuencia de parásitos gastrointestinales en ovinos del municipio de Culiacán, Sinaloa, México. 6° Seminario Internacional en Reproducción Animal y Producción de Leche y Carne. 2° Seminario Internacional de Avances en Producción Animal.
- Getachew T., Dorchies P., Jacquiet P. 2007. Trends and challenges in the effective and sustainable control of *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Review. Parasite-Journal De La Societe Francaise De Parasitologie* 14(1): 3-14. doi: DOI 10.1051/parasite/2007141003.
- Kenyon F., Sargison N. D., Skuce P. J., Jackson F. 2009. Sheep helminth parasitic disease in south eastern Scotland arising as a possible consequence of climate change. *Vet Parasitol.* 163: 293-7.
- Mederos A., Fernandez S., Vanleeuwen J., Peregrine A. S., Kelton D., Menzies P., Leboeuf A., Martin, R. 2010. Prevalence and distribution of gastrointestinal nematodes on 32 organic and conventional commercial sheep farms in Ontario and Quebec, Canada (2006-2008). *Vet Parasitol.* 170: 244-52.
- Musella V., Catelan D., Rinaldi L., Lagazio C., Cringoli G., Biggeri A. 2011. Covariate selection in multivariate spatial analysis of ovine parasitic infection. *Prev Vet Med.* 99: 69-77.
- O'connor L. J., Walkden-Brown S. W., Kahn L. P. 2006. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology* 142: 1-15.
- Rinaldi L., Vincenzo M. D. C., Hubertus H. L. C., Torgerson P. R., Fabien Mavrot, Theo W. F. M., Tom C. N. S., Annibale B. A. B., Cringoli G. 2015. *Haemonchus contortus*: spatial risk distribution for infection in sheep in Europe. *Geospatial Health* 9 (2): 325-331.

Saccareau M., Salle G., Robert-Granie C., Duchemin T., Jacquet P., Blanchard A., Cabaret J., Moreno C. R. 2017. Meta-analysis of the parasitic phase traits of *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Parasites & Vectors* 10: 201.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2013. Población ganadera ovina. <http://www.gob.mx/siap/documentos/poblacionganadera#/> (Consulta, abril 2018).

Tariq K. A., Chishti M.Z., Ahmad F., Shahl A.S. 2008. Epidemiology of gastrointestinal nematodes of sheep managed under traditional husbandry system in Kashmir valley. *Veterinary Parasitology* 158: 138-143.

Tramboos S. R., Shahardar R. A., Allaie I. M., Wani Z. A., Bushra M. S. 2015. Prevalence of gastrointestinal helminth infections in ovine population of Kashmir Valley. *Veterinary World* 8 (10): 1199-1204.

Vattaa A. F., Lindberg A. L. 2006. Managing anthelmintic resistance in small ruminant livestock of resource-poor farmers in South Africa. *J S Afr Vet Assoc* 77: 2-8.

Zajac A. M., Conboy G. A. 2011. *Veterinary clinical parasitology*. Editorial John Wiley & Sons, Inc. Iowa, USA. pp: 4-5.

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA CABRILLA PIEDRERA *Epinephelus labriformis* EN LA COSTA DE MAZATLÁN, SINALOA

Josué Israel López Cardiel¹, Gustavo Alejandro Rodríguez Montes De Oca¹, Leonardo Ibarra Castro², Juan Manuel Martínez Brown², Rebeca Sánchez Cárdenas¹, Diana Judith López Peraza¹.

¹Maestría en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa.

josuelcardiel@gmail.com

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental.

La familia Serranidae está compuesta por tres subfamilias: Serraninae, Anthiinae y Epinephelinae. La subfamilia Epinephelinae está compuesta por 32 géneros y 234 especies (Nelson *et al.* 2016), entre este amplio número de especies se encuentra *Epinephelus labriformis*. En general los serranidos son especies longevas caracterizadas como depredadores activos por encontrarse en los niveles superiores de la cadena alimentaria, siendo un componente ecológico importante en las comunidades arrecifales (Aburto *et al.* 2008). *E. labriformis* puede encontrarse a profundidades de 3 a 30 m localizada en las costas del Pacífico tropical, desde Baja California, México hasta Perú, incluyendo las islas costeras de Cocos, Revillagigedo y las Islas Galápagos (Fisher *et al.* 1985). La dieta para este grupo de peces consta de pulpos, calamares, sepias, camarones y cangrejos, sin embargo, cuando son juveniles, buscan arrecifes en aguas más someras o áreas protegidas como manglares, para encontrar refugio y alimento (Aburto *et al.*, 2008). Las cabrillas como *E. labriformis* son un recurso pesquero de importancia económica, sobre todo en pesca ribereña y pesca deportiva.

Por otro lado, la reproducción en peces está constituida por diversos factores naturales y sociales, porque al ser un proceso cíclico, está integrada básicamente de ritmicidades fisiológicas diarias y anuales que necesitan sincronizarse muy estrechamente con las variaciones periódicas del medio ambiente exterior (Saborido, 2009), como lo puede ser la temperatura y el fotoperiodo. Estas adaptaciones fisiológicas tienen relación con el medio donde habitan y por lo tanto tendrán influencia con el modelo reproductivo de la especie (Hovey *et al.* 1998).

De igual manera, se sabe que existen diferentes modelos reproductivos en los peces y se conoce que la mayoría de estos presentan gonocorismo (sexos separados). Sin embargo existe un porcentaje de peces teleosteos que presentan hermafroditismo simultáneo, secuencial y bidireccional. Siguiendo la secuencia anterior, se dice que una especie se considera hermafrodita, si una proporción de su población tiene la capacidad de funcionar con ambos sexos, de manera simultánea o secuencial (Sadovy y Shapiro, 1987). En el mismo sentido, los hermafroditas secuenciales se clasifican en dos términos de acuerdo a su función durante su periodo de vida, estos son: hermafroditas protándricos y protogínicos. Considerando la clasificación anterior, los hermafroditas protándricos presentan órganos femenino y

masculino; sin embargo, solo tiene un órgano funcional y presenta una característica particular, nacer como machos y en algún momento de su vida cambiar a hembras (Sadovy y Shapiro, 1987), y los hermafroditas protogínicos presentan la forma opuesta, comenzando su vida como hembras y en un cierto momento se convierten en machos. Debido a este comportamiento, se ha considerado a las especies del género *Epinephelus* en cuanto a su modelo reproductivo como hermafroditas protogínicos (Thonson y Munro, 1974).

La biología reproductiva es la encargada de estudiar todos estos aspectos importantes en el modelo reproductivo de una especie, dentro de los cuales se puede incluir también: los ciclos de vida, longevidad, relación sexual, mortalidad natural) y los parámetros reproductivos (fracción desovante (FD), actividad reproductiva (AR), índice gonadosomático (IGS), talla de primera madurez, desove, fecundidad), también realiza la validación de las escalas de madurez gonadal con el uso de técnicas histológicas. Este conocimiento sobre los aspectos reproductivos de cierta especie, nos permitirá administrar con bases técnicas y científicas, los recursos de una pesquería. Además, es la base para el desarrollo de la acuicultura, aportando información que ayude al manejo de reproductores y a la inducción al desove en cautiverio. Por lo cual es importante, describir la biología reproductiva de *E. labriformis*, debido a que es una especie de la cual se conoce muy poco sobre estos aspectos. Por consecuencia, este conocimiento nos permitirá saber en qué época del año podremos obtener reproductores maduros del medio silvestre, y poder llevarlos a cautiverio para prepararlos para el desove, también sabremos la cantidad de desoves que tendrá y la duración de este evento. Lo cual nos ahorra costos en el manejo de cualquier especie que presente potencial para la acuicultura.

Se han realizado diversos estudios sobre la biología reproductiva en peces, con el fin de conocer algunos aspectos de su ciclo reproductivo. Estos estudios se llevan a cabo para generar información veraz que sirva para el manejo, tanto de las pesquerías como de la acuicultura. A través del tiempo estos estudios, se han hecho específicos en ciertos temas como el hermafroditismo, que se presenta en diversos grupos de peces (Sadovy & Shapiro, 1987). La familia de los serranidos cuenta con varios estudios donde diversos autores han realizado investigación sobre sus estrategias reproductivas. Las especies de serranidos que se han estudiado son *Paralabrax nebulifer* por Hovey y Cooper (2000), que buscaron definir la estrategia reproductiva, utilizando los criterios propuestos por Sadovy y Shapiro (1987), que dice, que al presentar estas características indica la presencia de hermafroditismo protogínico: 1. Transición individual, 2. Cuerpos atrésicos en estadios 1, 2 o 3 de atresia oocítica con testículos, 3. Una membrana revestida de cavidad central en los testículos, 4. Presencia de esperma en la pared de la gónada y 5. Estructura poblacional. Por lo tanto, concluyeron que *Paralabrax nebulifer* es hermafrodita protogínico. De forma similar, en otro estudio realizado por Hovey *et al.* (2002) en la misma especie, encontrando resultados muy parecidos. Por otro lado, Estrada *et al.* (2011) realizaron un estudio sobre el ciclo reproductivo y desarrollo gonádico de *Mycteroperca rosácea* en la bahía de La Paz, México. Para realizar dicho estudio utilizaron una clasificación que comprende cuatro periodos dentro del ciclo reproductivo: (1) maduración, (2) desove, (3) posdesove y (4) reposo. Además observaron que *M. rosácea* presentó un desarrollo ovárico sincrónico por grupos, con una época reproductiva de mayo a junio, siendo los machos los primeros en madurar debido a la presencia de esperma dos meses antes. Además, realizaron una correlación entre temperatura, fotoperiodo y desarrollo de las gónadas. Por otro

lado, *M. rosácea* se clasifica como especie gonocórica. Sin embargo, encontraron un organismo en transición sexual clasificándolo como hermafrodita protogínico, la presencia de este fenómeno puede atribuirse a los factores sociales y naturales de su hábitat, que influyen en el comportamiento reproductivo de los Serranidos (Sadovy y Shapiro, 1987). Las investigaciones sobre la biología reproductiva de *E. labriformis*, la especie de interés de esta investigación, son escasas, sin embargo se han realizado estudios sobre aspectos biológicos de la especie. Morales-Flores, (2007) realizó un estudio sobre la biología de *E. labriformis* en la bahía de Mazatlán, Sin.: además, realizó un análisis macroscópico de las gónadas, en el cual utilizó una escala morfo cromática para encontrar la época reproductiva. También, encontró que mayo y abril son los meses donde se presentó la mayor cantidad de hembras en estado de maduración y desove. Además fue la época con mayor cantidad de hembras en estado de madurez. Por lo cual, concluyó que *E. labriformis* presenta una época reproductiva correspondiente a los meses de Abril y mayo. Cabe mencionar que la época reproductiva se estableció de acuerdo al índice gonadosomático y las características morfológicas de la gónada como color, peso y tamaño. Por otro lado Hernández-Florez, (2015) realizó un estudio de biología reproductiva de *E. labriformis*, donde definió que la actividad reproductiva de esta especie, ocurre en dos periodos reproductivos, una de mayo a junio y otra de menor intensidad de octubre a noviembre. Ambas definidas por la presencia de las fases de desarrollo gonadal (desarrollo, avanzado, madurez, eyaculación y desove). Sin embargo el estudio constó de una clasificación morfo cromática de las gónadas. También Núñez, (2016) efectuó un trabajo sobre la estructura poblacional de la cabrilla piedrera *E. labriformis* y evaluaron algunos aspectos de la biología reproductiva de la especie como talla de reversión sexual y la talla de primera madurez, mediante técnicas histológicas que le permitieron evaluar la reversión sexual, se logró identificar como testículos a las gónadas indefinidas sexualmente y sugirió mediante la evidencia que la talla de reversión sexual ocurre dentro del intervalo de 16.7 cm a 20.5 cm de Lt y estimó que la talla de primera madurez ocurre entre los 16 cm y 17 cm de Lt. También, Del Morales, (2007) describió algunos aspectos de la biología de *E. labriformis*, (época reproductiva y talla de primera madurez), con las capturas de los pescadores de la playa norte de la bahía de Mazatlán. Donde encontró que *E. labriformis* presenta una época reproductiva de abril a junio y una talla de primera madurez entre los 23.5 cm y 25 cm. Cabe señalar que la época reproductiva, se basó en la descripción macroscópica de la gónada y se aplicaron squash para la determinación del sexo y fases de desarrollo gonadal, tomando en cuenta el tamaño, color y textura de la gónada.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la falta de información sobre la biología reproductiva de *Epinephelus labriformis*, es necesario realizar un estudio utilizando técnicas histológicas para corroborar diferentes aspectos de la biología reproductiva de la especie, como talla de primera madurez, estrategia reproductiva, el desarrollo gonadal, la época reproductiva, la talla de transición sexual. Además de evaluar comportamiento y capacidad de desove en cautiverio, para así poder ampliar el conocimiento sobre la biología reproductiva de la cabrilla piedrera. Por lo cual nos planteamos las siguientes preguntas de investigación: ¿Cuál es la época reproductiva de *E. labriformis*?, ¿Qué tipo de desarrollo ovárico presenta *E. labriformis*?, ¿Qué tipo de hermafroditismo presenta *E. labriformis*?, ¿Cuál es la talla primera madurez y transición sexual de *E. labriformis*?, ¿Cuál es

la calidad de los huevos en cautiverio para *E. labriformis*? y ¿Cuál es el comportamiento reproductivos de *E. labriformis* en cautiverio?

HIPÓTESIS

La Cabrilla piedrera *Epinephelus labriformis* presenta patrones de biología reproductiva igual a otros organismos de la familia taxonómica Epinephelinae, modificando tentativamente la proporción de sexos en poblaciones naturales debido a procesos extractivos no regulados.

Objetivo general.

Caracterizar la biología reproductiva de la Cabrilla piedrera *Epinephelus labriformis*.

Objetivos específicos.

- a) Evaluar el efecto de los parámetros ambientales (temperatura y fotoperiodo) con la época reproductiva de la Cabrilla piedrera *E. labriformis*.
- b) Describir el desarrollo gonadal de la Cabrilla piedrera *E. labriformis*
- c) Determinar las variaciones de los índices morfofisiológicos (índice gonadosomático, índice hepatosomático y factor de condición).
- d) Determinar la talla de primera madurez e inversión sexual en *E. labriformis*.
- e) Evaluar la capacidad reproductiva de *E. labriformis* en condiciones de cautiverio.

MÉTODO Y MATERIALES

De manera mensual durante un ciclo anual se realizarán capturas de los organismos mediante métodos de pesca artesanal donde se recolectarán 40 organismos por mes de *E. labriformis*, mismos que serán llevados al Laboratorio de reproducción y cultivo larvario de peces marinos en las instalaciones de CIAD-Mazatlán. En donde se realizarán biometrías de los organismos recolectados, la longitud se medirá con un ictiómetro (30 cm) y para el peso se utilizará una balanza digital marca OHAUS mod. SB200 (0.01 g – 200 g). Posteriormente serán disectados y la gónada será retirada para su posterior análisis histológico. Se extraerá la gónada de cada organismo para ser fijadas en solución Davidson y deshidratados en soluciones de etanol (70 al 100%) para su posterior análisis. Subsiguientemente serán lavadas y aclaradas en etanol y xileno y respectivamente las gónadas se procesarán de acuerdo a la técnica de inclusión en parafina. De los bloques de parafina se obtendrán secciones de 5 µm de espesor, los cortes se montarán en portaobjetos y se observarán bajo un microscopio compuesto después de teñir con hematoxilina y eosina de Harris. Para determinar la época reproductiva de *E. labriformis*, se usará lo propuesto por (Estrada, 2012) para la clasificación del desarrollo las gónadas de machos y hembras para la especie *Mycteroperca rosácea*, (Maduración, Post desove, desove y receso). Usando esta clasificación se podrá obtener el número de organismos pertenecientes a cada estadio del desarrollo gonadal y con esto poder inferir en la época donde ocurre el evento de reproducción de *E. labriformis*. El IGS es una relación entre el peso de la gónada y el peso

total del organismo multiplicado por 100. Un valor alto del IGS indicara que los organismo se encuentran en su etapa reproductiva, muy probablemente en un estadio de maduración o post desove, y un valor bajo nos dirá que el organismo no se encuentra en su época reproductiva o que esta un estadio de reposo. Para calcula el índice gonadosomático se utilizar la siguiente formula.

$$IGS = PG/PT * 100$$

El índice hepatosomatico es una relación entre el peso del hígado y el peso total de un organismo, multiplicado por 100. Para calcular el índice hepatosomatico se ejecutara la siguiente formula

$$IHS = PH/PT * 100$$

El factor de condición de Fulton, que es la relación entre la talla y el peso del individuo $FC = PLT^3 / * 100$. Este índice se calculara utilizando la siguiente formula.

$$FC = P/LT^3 * 100$$

La talla de primera madurez, se considera como la talla a la cual el 50% de la población está en condiciones óptimas de reclutarse al stock reproductivo de la especie. Se utiliza un modelo logístico donde se utiliza la siguiente formula.

$$Pi = 1 / (1 + e (a - b LT))$$

Para evaluar la capacidad reproductiva de *E. labriformis* se utilizara la fecundidad total, la frecuencia de desove, el periodo de desove y la fertilización.

LITERATURA CITADA

Aburto O. O., Erisman B. V., Valdez O. G., Danemann D. E., Torreblanca R. J., Silva R. T. y Ortuño M. G. 2008. Serránidos de Importancia Comercial del Golfo de California: Ecología, Pesquerías y Conservación. Ciencia y Conservación, (1): 1-23p.

Del Moral F. L. 2007. Contribución al conocimiento de la biología de la cabrilla verde *Epinephelus labriformis* (Jenys, 1840), dentro de la pesca artesanal en la playa Norte de Mazatlán, Sinaloa. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 81p.

Estrada, G. J. A., Maldonado, G. M., García L. V. y Carrillo M. 2011. Ciclo reproductivo de la cabrilla arenera *Mycteroperca rosacea* en la bahía de La Paz, México. Revista Ciencias Marinas, 37(4): 425–441p.

Fisher, W., Krupp F., Schneider W., Sommer C., Carpenter K. E. y Niem V.H. 1985. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacifico centro-oriental. Volumen III. Roma, España. 664p.

Hernández F. E. 2015. Aspectos biológicos de la cabrilla verde *Epinephelus labriformis* (Jenyns, 1840) capturadas por la pesquerías de playa Norte Mazatlán. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. 46p.

Hovey B. C., Allen G. L. y Hovey E. T. 2002. The Reproductive of Barred Sand Bass (*Paralabrax nebulifer*) from Southern California. *CalCOFI Rep.*, Vol. 43, 174-178p.

Nelson, J. G., Grande T. C. y Wilson M. V. H. (2016). *Fishes of the World*. Editorial WILEY. Hoboken, Canada. 707p. ISBN 9781118342336

Saborido, F. 2009. *Ecología de la reproducción de peces y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos*. Curso de doctorado. Instituto de Investigaciones Marinas, Universidad de Vigo, España. 71p.

Sadovy Y., y Liu M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish Fisher.*, 9: 1-43. DOI: 10.1111/j.1467-2979.2007.00266.x.

Sadovy Y., y Shapiro D. Y. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia*. American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH) 1: 136-156. DOI: 10.2307/1446046.

Thomson, R., y Munro J. 1974. The biology, ecology and binomics of the hinds and groupe, serranidae Caribbean Coral Reet Fishery. *Journal of Fish Biology* 12(2):115 – 146. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1978.tb04158.x.

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA, MOLECULAR Y POTENCIAL PATOGENICO DE POBLACIONES DE *Fusarium* spp. DEL CULTIVO DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) EN EL ESTADO DE SINALOA

Tomás Aarón, Vega Gutiérrez¹, Guadalupe Alfonso, López Urquídez¹, Ángel Roberto, Martínez Campos², Raúl, Allende Molar³, Sixto, Velarde Félix⁴ y Carlos Alfonso López Orona^{1*}

¹Profesor e Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

²Profesor e Investigador de Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales de la Universidad Autónoma del Estado de México. ³Profesor e Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Veracruzana. ⁴Investigador del Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarios.

*Autor para correspondencia: clopezorona@uas.edu.mx

INTRODUCCIÓN

El cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas con mayor importancia en muchos países del mundo, en el año 2016 esta hortaliza, ocupó el primer lugar con una producción de 33, 433,433 t, los principales países productores son: China, India, Estados Unidos, Turquía, Egipto, Irán, Italia, España, Brasil y México. (FAO, 2017).

En México, el tomate es considerado como la segunda especie hortícola con mayor superficie sembrada, con un volumen de 1, 375,708 t. Sinaloa es el principal estado productor de tomate con un volumen de 740, 294 t, lo que representa el 53.81% del total de la producción nacional (SIAP, 2017). Sin embargo, la producción de este cultivo enfrenta múltiples problemas, en Sinaloa se conocen al menos 10 enfermedades radiculares vasculares del tomate, la más importante en la actualidad por su impacto y distribución es la marchitez del tomate o fusariosis ocasionada por el hongo *Fusarium* spp, la cual es uno de los factores que más limita la producción de esta hortaliza, al grado de ocasionar pérdidas totales en algunas ocasiones (Ramírez, 1998).

Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo causando grandes pérdidas en el cultivo de tomate, se ha reportado en por lo menos 32 países (Jones *et al.*, 1992). Dicha enfermedad es atribuida a especies tales como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, detectados a nivel mundial, también se ha descrito a *Fusarium solani* como un importante patógeno de este cultivo en distintos lugares del mundo, entre los cuales se cuentan Argentina, California, Australia, India, Turkía e Israel (Cucuzza & Waterson, 1992 y Miyao *et al.*, 2000). En Australia, *Fusarium solani* es la principal causa de marchitamiento en tomates resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (Wolcan & Lori, 1991). *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, es un hongo que se presenta principalmente como saprofito en el suelo, también como patógeno especializado denominado forma especial (f. sp.), según la especie hospedante que afecte. Se caracteriza por ser un hongo muy variable debido a su especificidad y virulencia. Dicha variabilidad también se manifiesta por la presencia

de razas fisiológicas numeradas del uno al tres (R1, R2 y R3), esto obedece al orden cronológico en que fueron descubiertas (Blancard, 1997, González, 2006).

Fusarium spp. Se encuentran en una diversidad de condiciones ambientales desde trópicos secos hasta climas templados (Cai *et al.*, 2003). Esta enfermedad es más agresiva en climas cálidos y suelos con textura arenosa (González, 1974). *Fusarium spp.* causa pérdidas significativas en la producción de tomate tanto en invernadero como en condiciones de campo abierto, El control se ha basado principalmente en el uso de herramientas tales como cultivares resistentes, rotación de cultivos, los tratamientos químicos al suelo y las aplicaciones de fungicidas, entre otras técnicas culturales, físicas y biológicas (Chen y Zhou, 2009).

En el estado de Sinaloa la temperatura media anual es alrededor de 25°C, la cual junto con un ambiente húmedo, las altas densidades de siembra y la práctica del monocultivo son el camino al establecimiento y dispersión de enfermedades fúngicas. Afortunadamente, la mayoría de estas enfermedades pueden controlarse mediante la aplicación de fungicidas o el uso de variedades resistentes (Marois y Mitchell 1981, Jarvis 1989, King *et al.*, 2010). Sin embargo, cuando surge una nueva enfermedad, puede ser muy difícil encontrar una solución de control si el agente patógeno no está identificado correctamente. La implementación de medidas apropiadas de manejo de enfermedades requiere una identificación y detección confiable del patógeno (Moine *et al.*, 2014). Además de las técnicas clásicas como identificación morfológica y crecimiento de colonias, los métodos de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), han proporcionado un enfoque rápido para la identificación de patógenos de plantas (O' Donnell 2000; Vincelli y Tisserat 2008). También varias regiones de ADN, tales como la región espaciadora transcrita interna (ITS) del ADN ribosomal (rADN) y, particularmente, el gen del factor de elongación de la traducción 1- α (*tef*), son útiles para la identificación de especies de *Fusarium*. (O'Donnell *et al.*, 1998; Geiser *et al.*, 2004).

HIPÓTESIS

En el estado de Sinaloa podemos encontrar diferentes especies de *Fusarium spp.* como causantes de la marchitez del tomate, las cuales se diferencian genéticamente.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la diversidad genética de las poblaciones de *Fusarium spp.* de los cultivos comerciales de tomate en el estado de Sinaloa.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar las especies de *Fusarium spp.* aisladas de tallos de plantas de tomate utilizando métodos culturales, morfológicos y moleculares.
2. Determinar la patogenicidad de las cepas colectadas de *Fusarium spp.* en el estado de Sinaloa.
3. Realizar un análisis filogenético para conocer la relación filogenética de las especies aisladas en el estado de Sinaloa de *Fusarium spp.*
4. Evaluar la sensibilidad de los aislamientos de *Fusarium spp.* a diferentes fungicidas comerciales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento de *Fusarium*. Se realizó un muestreo dirigido (Krebs, 1998) durante el ciclo agrícola otoño-invierno 2016-2017 en parcelas sembradas con tomate del estado de Sinaloa, ubicado a los 25° 00' 10" de latitud norte y a los 107° 30' 10" de longitud oeste, el cual presenta una altitud máxima de 2800 msnm. (Figura 1). Se colectaron plantas de tomate con síntomas de fusariosis vascular en 84 lotes agrícolas, se tomaron al azar 15 plantas por lote, a las cuales se realizó un corte transversal en el tallo a los 30 cm arriba de la corona para observar la necrosis de los haces vasculares y así poder tomarlas como muestra. (Cuadro 1). Las muestras de tallos se lavaron con agua destilada, posteriormente se les realizaron cortes longitudinales de 3 mm, los cuales se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 1 min; se enjuagaron con agua destilada estéril por 2 min. Para el desarrollo del hongo, el tejido vegetal fue colocado en cajas de Petri con medio papa dextrosa-agar (PDA) suplementado con PCNB (1.5 mL L⁻¹) y cloranfenicol (600 mg L⁻¹), incubándose a una temperatura de 25 °C durante 7 días. (Rodríguez y Montilla, 2002). Para la obtención de aislados monospóricos se utilizó la metodología propuesta por Hansen y Smith (1932), para lo cual se cortó un pequeño fragmento del micelio crecido en medio PDA, el cual fue diluido en 1.0 mL de agua destilada estéril y mediante diluciones seriadas fueron sembraron en cajas Petri con medio PDA, a partir de donde se obtuvo el cultivo monospórico, los cuales se observaron al microscopio, ubicando esporas individuales germinadas; se marcó el sitio sobre el agar y un fragmento de este con la espóra germinada y seleccionada se transfirió a una nueva caja de Petri con medio PDA, incubándose en las mismas condiciones anteriormente mencionadas.

Cuadro 1. Coordenadas geográficas de los municipios del estado de Sinaloa donde fueron colectadas las plantas de tomate con síntomas de *Fusarium spp.*

Municipio	Coordenadas Geográficas	Numero de Muestras
Sinaloa de Leyva	25°76'52" N 108°27'55" O	12
El Fuerte	26°05'00" N 108°45'56" O	148
Angostura	25°37'47" N 108°13'25" O	32
Culiacán	24°50'12" N 107°35'42" O	245
Mocorito	25°45'43" N 108°03'11" O	43
Guasave	25°47'26" N 108°38'59" O	99
Elota	24°03'25" N 106°47'55" O	110
Navolato	24°46'07" N 107°31'46" O	134
Escuinapa	22°45'0" N 105°50'16" O	27
El Rosario	23°2'51" N 105°56'54" O	200
Total de Muestras		1050



Figura 1. Mapa de México y estado de Sinaloa donde fueron colectadas las plantas de tomate con síntomas de *Fusarium spp.*

Identificación morfológica. Una vez crecidos los aislamientos del hongo en las cajas Petri con medio de cultivo PDA, se realizaron observaciones en el microscopio compuesto, se observó el color de la colonia y la formación de micelio aéreo, se observaron las macroconidias, microconidias y presencia o ausencia de clamidosporas, después de 14 días de incubación en medio PDA a 25°C en un fotoperíodo de 12 horas luz, esto, para identificar aislados de *Fusarium spp.*, según los criterios propuestos por Leslie y Summerell (2006).

Prueba de patogenicidad. Para determinar la patogenicidad, se utilizó la variedad Bonnie Best (Sin genes de resistencia a *Fusarium spp.*). Las semillas se sembraron en charolas de poliestireno de 128 cavidades con una mezcla de turba de la marca peat moss® previamente esterilizada en autoclave por 1 h a 120 °C, las cuales se irrigaron y fertilizaron de acuerdo a las recomendaciones técnicas del INIFAP (2010). La inoculación de las diferentes cepas de *Fusarium spp.* se hizo en plántulas con un desarrollo de 25 días después de la siembra, a través de una suspensión conidial (1×10^5 CFU mL⁻¹) a través de la inmersión de raíces por 20 min, a las cuales previamente se hirieron con una aguja hipodérmica. El tratamiento testigo consistió en plantas heridas sumergidas en agua destilada esterilizada. Inmediatamente se trasplantaron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con turba previamente desinfectada. Las plantas se mantuvieron en sustrato húmedo durante todo el período de la evaluación en un invernadero, las plantas se mantuvieron durante 60 días en una cámara de crecimiento con un fotoperíodo de 12 horas de luz y temperaturas de 23-26 ° C.

En este ensayo se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones de una planta en cada material para la toma de datos, se observó y se registró la respuesta de las plantas inoculadas; la primer evaluación de la patogenicidad se realizó 15 días después de la inoculación, posteriormente cada 15 días después de la primer evaluación, esto con base a la

presencia o ausencia de síntomas de la enfermedad, utilizando la escala de severidad de 0 a 100% Marlatt et al. (1996), como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Escala de severidad de acuerdo a Marlatt et al. (1996).

Escala	Síntomas
0	Planta sana
1	Primeros síntomas de clorosis de las hojas
2	Severa clorosis de las hojas, síntomas iniciales de marchitamiento
3	Graves síntomas de marchitamiento y clorosis de las hojas
4	Planta totalmente marchita, completamente necrótica

El índice de severidad de la enfermedad (DSI) se calculó con la fórmula propuesta por Galanihe et al. (2004):

$$DSI = \sum [P \times Q / M \times N] \times 100$$

Donde P = punto de severidad; Q = número de plantas infectadas con alguna escala; M = total de número de plantas observadas; N = máxima clasificación en el número de la escala. El ensayo se realizó el 2 de octubre del 2017 y finalizó el 30 de noviembre; el segundo ensayo se realizó en diciembre del 2017. Ambos experimentos estuvieron sometidos a las mismas condiciones descritas anteriormente.

Extracción de ADN y amplificación por PCR. Se seleccionaron 149 aislamientos monosporicos purificados para su caracterización mediante un análisis de PCR. Para la extracción del ADN, se empleó el método descrito por Velarde-Félix et al. (2015), para ello, el micelio del hongo se colectó con una asa bacteriológica estéril a partir del medio sólido; éste fue colocado en mortero y pistilo de porcelana (previamente esterilizado y enfriado a -70 ° C). Después se agregó 1 mL de amortiguador de extracción (NaCl 30 mM, ácido etilendinitrilotetracético 30 mM (EDTA) y Tris Base 250 mM (pH 8.5). El producto de la maceración se colocó en tubos Eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente se le añadieron 100 µL de cetiltrimetilbromuro de amonio al 10% (CTAB) y 250 µL de cloruro de sodio 5M (NaCl), la mezcla se incubó a 95°C durante 15 min, y luego se centrifugó a 13,000 rpm durante 10 min. La solución acuosa se lavó con un volumen de cloroformo frío (v/v), se agitó con un equipo de vórtex durante unos segundos, se centrifugó durante 5 min, y se precipito con un volumen de isopropanol absoluto frio. Finalmente el ADN obtenido se suspendió en 50 µL de agua libre de nucleasas (Promega) y se almacenó a 4°C. El ADN extraído de aislamientos de *Fusarium* fue analizado por PCR con el primers ITS1 y ITS4 (ITS), así como también, el gen EF-1 y EF-2 (TEF) propuestos por Geiser et al. (2004) and O'Donnell et al. (1998). La mezcla de la reacción final (25 µL) contenía 1.5 µL de DNA, una mezcla de dNTPS (10 mM), primers (10 mM), MgCl₂ (25 mM), buffer PCR, 5U de *Taq* DNA polymerase. Las Secuencias de todos los primers y condiciones de PCR se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Condiciones de temperatura de alineación y primers de secuencia (ITS y TEF) para el análisis de *Fusarium spp.* por PCR.

Primer	Secuencia de Primers (5' → 3')	Temperatura de Alineamiento	Tamaño del fragmento	Especie
D: EF1	ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC	53 °C	700 pb	Todas las especies
R: EF2	GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT			del género <i>Fusarium</i> ^{ab}
D:ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	55 °C	600 a 650 pb	Todas las especies
R:ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATG			de hongos ^c

D: Iniciador directo, R: iniciador reverso

a O'Donell *et al.* (1998)

b Geiser *et al.* (2004).

c White *et al.* (1990).

Secuenciación enzimática. Se seleccionaron 15 aislamientos los cuales presentaron mayor índice de severidad de la enfermedad en la patogenicidad y también las diferentes zonas de origen del muestreo en el estado de Sinaloa; el producto PCR fue enviado a purificar y a secuenciar, a la empresa Macrogen Korea en Seúl, Corea del Sur. La búsqueda de similitud entre secuencias de ADN se realizó por medio del programa BLAST (Programa Informático de Alineamiento de Secuencias de Tipo Local) (Altschul y col, 1990), con el cual se compararon las secuencias de nucleótidos en estudio, con las bases de datos del NCBI (Centro Nacional para la Información de Biotecnología) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), de esta manera se identificaron los valores de homología.

Análisis filogenéticos. Los análisis filogenéticos se realizaron utilizando las secuencias EF-1 α e ITS-1. Las secuencias de todos los aislados se alinearon usando Clustal W. Se generaron árboles de unión de vecinos basado en la alineación obtenida con el programa de software MEGA 7.0 (Tamura et al. 2011), uno para el gen TEF y otro para el gen ITS. La confianza de los nodos se probó con 1000 réplicas de arranque.

Análisis de los datos. Los datos obtenidos de la evaluación de patogenicidad de poblaciones de *Fusarium spp.* en el ensayo se sometieron a un análisis de varianza con la prueba de Tukey para determinar la diferencia significativa de virulencia entre las cepas ($p \leq 0,05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software SAS (SAS 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Toma de muestras y síntomas de la enfermedad.

Se realizó un muestreo en 84 lotes hortícolas del estado de Sinaloa en el ciclo agrícola otoño-invierno 2016-2017, las plantas muestreadas presentaron clorosis en las hojas y marchitamiento principalmente (Fig. 2). También observamos que las plantas presentaban una severa necrosis en los haces vasculares del tallo 30 cm por encima de la base de las plantas (Fig 2c).



Figura 2. Fotografías de los Síntomas encontrados en las plantas de tomate muestreados. **a** clorosis en las hojas; **b** marchitamiento en las hojas; **c** necrosis en los haces vasculares del tallo; **d** achaparramiento en la planta de tomate.

Identificación morfológica.

Dentro de los 15 aislados de *Fusarium* caracterizados, siete aislados mostraron marcadores morfológicos típicos para *F. oxysporum*, y ocho para *F. falciforme* (Cuadro 4). Los aislamientos de *F. oxysporum* en PDA mostraron un micelio algodonoso, de color blanco o crema, con una pigmentación en el fondo de la colonia que varía de amarillo a marrón (Fig. 4c). Se observaron microconidias de forma cilíndrica a renal, con ausencia de septas, 5-15 x 3-4.5 μm (Fig. 4b). Las Macroconidias en forma recta, de pared delgada, 19-30 x 4-6 μm , 3-4 septas (Fig. 4a). Todos los aislamientos mostraron fiálides (Fig. 4e y f). Las clamidosporas no fueron evidentes.

Los aislamientos de *F. falciforme* mostraron micelio aéreo algodonoso de color blanco, con pigmentación marrón en el fondo de la colonia. Se observaron microconidias en forma ovales con 0 a 2 septas, 22.5-26 x 7-15 μm de longitud (Fig. 5a). Las Macroconidias se mostraron forma cilíndrica, ligeramente rectas y anchas con 3 o 4 septas, 68-75.2 x 12.9-19.4 μm (Fig. 5b). Las clamidosporas no fueron evidentes.

Cuadro 4. Caracterización morfológica de aislamientos de *Fusarium spp.* de plantas de tomate en el estado de Sinaloa.

Aislamiento	¹ Color de Micelio Frente/atrás	² Macroconidias		² Microconidias	
		Largo / ancho (μm)	Septas	Largo / ancho (μm)	Septas

F. oxysporum

FOB20SINELO	Blanco/Amarillo	18-37 x 5-6	3-4	4-16 x 3.5-5	0-1
FOB25SINGUA	Blanco/Marrón	17-35 x 5-7	3-4	4-15 x 3-5	0-1
FOB29SINESC	Crema/Amarillo	17-32 x 4-6	3-4	6-14 x 3-4.2	0-1
FOB30SINFUE	Blanco/Amarillo	16-30 x 5-6	3-4	4-15 x 4-6	0-1
FOA62SINFUE	Blanco/Amarillo	16-35 x 5-7	3-4	4-16 x 4-5	0-1
FOA64SINELO	Blanco/Amarillo	17-30 x 5-6	3-4	5-15 x 4-5	0-1
FOA66SINESC	Blanco/Marrón	19-40 x 6-7	3-4	6-15 x 4-6	0-1

F. falciforme

FSB31SINGUA	Blanco/ Marrón	29-42 x 3.5-6	2-4	3-26 x 1.5-5	1-3
FSB39SINSIN	Blanco/Crema	27-36 x 5-7	2-4	4.5-17 x 1.5-3	1-3
FSB50SINCUL	Blanco/ Marrón	19-31 x 5-7	3-4	5-18 x 1.5-3	1-3
FSA55SINESC	Blanco/ Marrón	19-34 x 4-7	3-4	4-16 x 1.5-3	1-3
FSA54SINFUE	Blanco/Amarillo	21-35 x 4.5-7	2-4	5-20 x 1.5-3	1-3
FSA63SINNAV	Blanco/ Marrón	22-37 x 5-7	3-4	4-16 x 1.5-3	1-3
FFB38SINCUL	Blanco/ Marrón	18-33 x 5-7	3-5	6-24 x 2-4	1-3
FFB47SINCUL	Blanco/Amarillo	25- 37 x 4-6	3-5	5-21 x 2-4	1-3

¹Obtenido 14 días después de la incubación en medio PDA a 20 ° C en un fotoperíodo de 12.

²Caracterizado 14 días después de la incubación en medio BLA a 20 ° C.

Figura 4. Características morfológicas de aislamientos de *Fusarium oxysporum*: **a** Macroconidia y microconidias barra de escala= 5 μ m; **b** Microconidias barra de escala= 5 μ m; **c** Vista superior de una colonia típica en PDA; **e y f** Fiálides barra de escala= 5 μ m; **g** Aislamientos fúngicos de plantas de tomate enfermas.

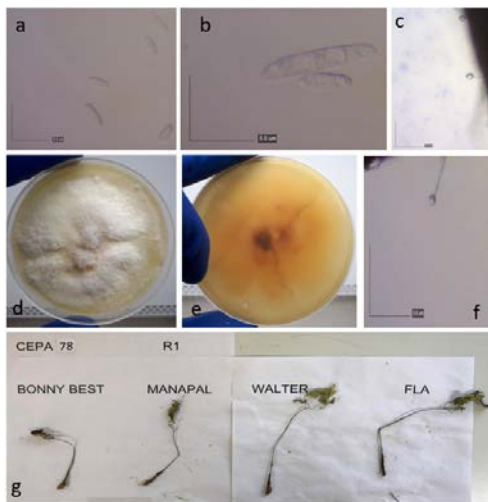
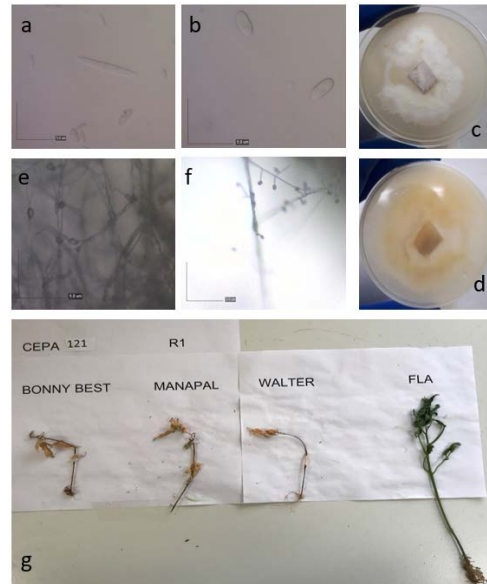


Figura 5. Características morfológicas de aislamientos de *Fusarium falciforme*: **a** Microconidias barra de escala= 5 μ m; **b** Macroconidia y Microconidia barra de escala= 5 μ m; **c y f** Fiálides barra de escala= 5 μ m; **d** Vista superior de una colonia típica en PDA; **g** Aislamientos fúngicos de plantas de tomate enfermas.

Pruebas de patogenicidad.

Se utilizaron 149 aislamientos monosporicos para esta prueba, de los cuales solamente 15 aislamientos fueron patogénicos para el tomate. Todas las plantas infectadas mostraron un amarillamiento inicial a partir de la primera y segunda hoja, *F. oxysporum* y *F. falciforme* presentaron síntomas aéreos similares (Fig. 4g y 5g). Con respecto a las plantas inoculadas con *F. oxysporum* mostraron amarillamiento, clorosis en las hojas y oscurecimiento de los tejidos vasculares.

Las plantas infectadas con *F. falciforme* mostraron necrosis vascular y pudrición radical, también se observó blanqueamiento de la lámina foliar. Los aislamientos variaron en la incidencia de severidad de acuerdo con la velocidad con la que causaron los síntomas de la enfermedad (Fig. 6). En general, los aislados de *F. oxysporum* fueron más agresivos en comparación con los aislados de *F. falciforme*. El aislado FOB29SINESC fue más agresivo y causó un 83.3% de severidad de la enfermedad desde la segunda semana después de la inoculación, causando la muerte de las plantas a los 45 días después de la inoculación. Los aislamientos FOB30SINFUE y FOA66SINESC presentaron 75% desde la segunda semana después de la inoculación, causando la muerte también a los 45 después de la inoculación. Los aislamientos que mostraron una incidencia de severidad intermedia la cual oscilo entre 25 y 50% fueron FOB20SINELO, FOB25SINGUA, FOA62SINFUE, FFB31SINGUA, FFB39SINSIN, FFA54SINFUE, FFA63SINNAV y FFB38SINCUL, mientras que los aislados FOA64SINELO, FFB50SINCUL, FFA55SINESC y FFB47SINCUL fueron menos agresivos (Fig. 6). Los hongos fueron recuperados de plantas sintomáticas y mostraron las mismas características morfológicas de los aislados originalmente inoculados, confirmando así su patogenicidad. Las plantas de control no mostraron ningún síntoma. Las inoculaciones se realizaron dos veces, mostrando resultados similares.

Cuadro 5. Origen de los aislamientos, códigos y números de acceso al GenBank del complejo de especies de *Fusarium* encontradas en el estado de Sinaloa.

Especie	Código Aislamiento	Hospedante	Origen	Acceso GenBank
<i>F. oxysporum</i>	FOB20SINELO	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sinaloa, Elota	MH298326
<i>F. oxysporum</i>	FOB25SINGUA	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sinaloa, Guasave	MH463538
<i>F. oxysporum</i>	FOB29SINESC	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sinaloa, Escuinapa	MH463539
<i>F. oxysporum</i>	FOB30SINFUE	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sinaloa, El fuerte	MH463540
<i>F. oxysporum</i>	FOA62SINFUE	<i>Solanum lycopersicum</i>	Sinaloa, El fuerte	MH048074

<i>oxysporum</i>		<i>lycopersicum</i>		
<i>F.</i>		<i>Solanum</i>		
<i>oxysporum</i>	FOA64SINELO	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Elota	MH048079
<i>F.</i>		<i>Solanum</i>	Sinaloa,	
<i>oxysporum</i>	FOA66SINESC	<i>lycopersicum</i>	Escuinapa	MH048078
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFB31SINGUA	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Guasave	MH463541
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFB39SINSIN	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Sinaloa	MH463543
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFB50SINCUL	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Culiacán	MH463545
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>	Sinaloa,	
	FFA55SINESC	<i>lycopersicum</i>	Escuinapa	MH048076
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFA54SINFUE	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, El fuerte	MH048075
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFA63SINNAV	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Navolato	MH048077
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFB38SINCUL	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Culiacán	MH463542
<i>F. falciforme</i>		<i>Solanum</i>		
	FFB47SINCUL	<i>lycopersicum</i>	Sinaloa, Culiacán	MH463544

Figura 6. Incidencia de la enfermedad (%) causada por aislados de *F. oxysporum* y *F. falciforme* en plantas de tomate a los 60 días después de la inoculación.

Identificación molecular

El análisis por PCR de los 9 aislamientos seleccionados amplificó el fragmento esperado de 654 pb del gen TEF-1 α (Fig. 7). Posteriormente, la búsqueda en el programa BLAST indicó que las cepas FOB20SINELO, FOB25SINGUA, FOB29SINESC y FOB30SINFUE, presentaron un 97 % de similitud con las secuencias de genes correspondientes de *Fusarium oxysporum* en GenBank, las cuales representaron el 44.4% de la muestra seleccionada, las cepas FFB31SINGUA, FFB39SINSIN, FFB50SINCUL, FFB38SINCUL y FFB47SINCUL, presentaron un 99% de similitud con las secuencias de genes correspondientes de *Fusarium falciforme* en GenBank, las cuales representaron el 55.5 % de la muestra seleccionada.

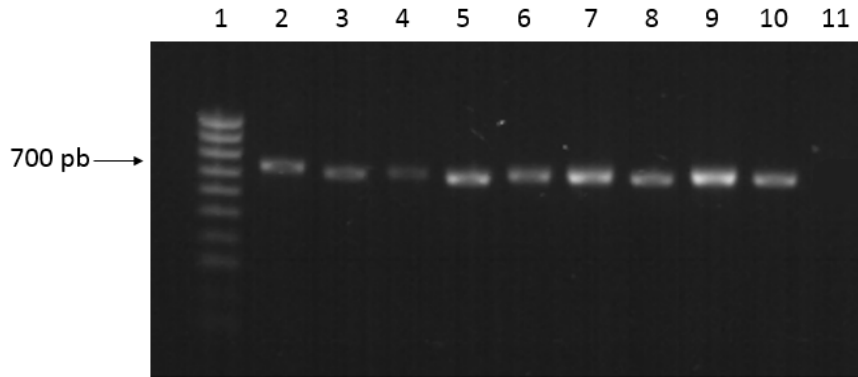


Figura 7. Producto PCR obtenido a partir de ADN genómico de aislamientos seleccionados para la identificación de *Fusarium spp.* con el par de cebadores EF-1 y EF-2, visualizados en un gel de agarosa al 1,0%. Carril 1; Marcador de peso molecular de 100 pb, carriles 2-10; aislamientos seleccionados (FOB20SINELO, FOB25SINGUA, FOB29SINESC, FOB30SINFUE, FFB31SINGUA, FFB38SINCUL, FFB39SINSIN, FFB47SINCUL y FFB50SINCUL). Carril 11; control negativo.

Con el gen ITS, los aislamientos amplificaron en 620 pb para todos los aislamientos de *F. oxysporum* y 99 % de similitud con respecto al BLAST. *F. falciforme* amplificó a 600 pb y con un 99 % de similitud con respecto al BLAST. (Figura 8).

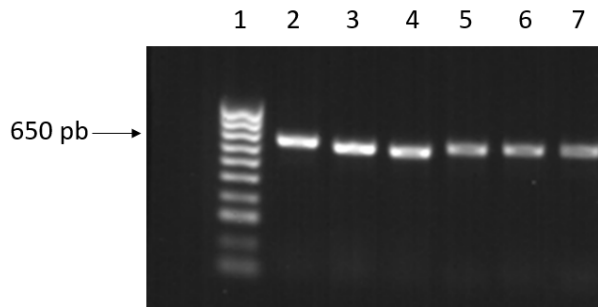


Figura 8. Producto PCR obtenido a partir de ADN genómico de aislamientos seleccionados para la identificación de *Fusarium spp.* con el par de cebadores ITS1 y ITS4, visualizados en un gel de agarosa al 1,0%. Carril 1; Marcador de peso molecular de 100 pb, carriles 2-7; aislamientos seleccionados (FFA54SINFUE, FFA55SINESC, FFA63SINNAV, FOA62SINFUE, FOA64SINELO Y FOA66SINESC).

Análisis filogenético. El análisis generó dos árboles filogenéticos, uno para secuencias analizadas mediante el gen TEF-1 α y otro mediante el gen ITS comparando las diferentes especies de *Fusarium* reportadas en este estudio, con otras secuencias reportadas en el mundo (Figura 9). En el filograma resultante por el gen TEF-1 α , mostró la formación clara de tres grandes grupos con valores de similitud mostrados en las ramas, alineando cada

especie de *Fusarium* en cada grupo. El primer clado incluyo dos especies diferentes *F. brasiliense* y *F. tucumaniae*, el cual se estableció como un grupo externo. El grupo de *F. oxysporum* mostró pequeños clados diferentes; el aislamiento con numero de acceso HM057315 reportado en tomate en USA, mostró una similitud de 99.8 % con los aislamientos obtenidos en el presente estudio ubicándose en el mismo clado. El grupo de *F. falciforme*, formó pequeños clados, mostrando que los aislamientos obtenidos en este estudio tienen una similitud que varía entre 99.5% y 100% con los aislamientos reportados en México con números de acceso KY514183, KY514180, KY514184 y KY514178. (Figura 9).

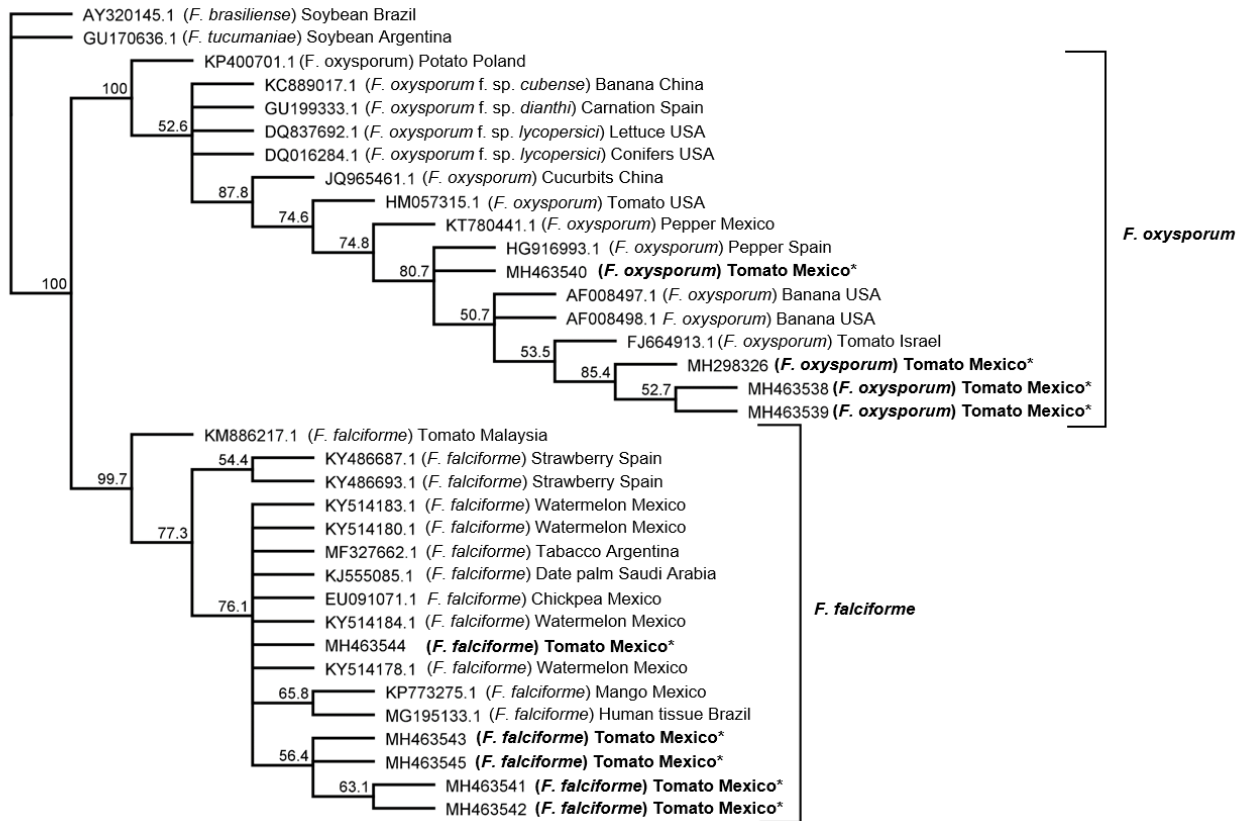


Figura 9. Dendrograma filogenético por el método de Neighbour joining en el alineamiento de nucleótidos de secuencias parciales del gen TEF-1 α de *F. falciforme* y *F. oxysporum*. Los valores en los nodos representan el porcentaje de núcleos de arranque (1000 repeticiones).

En el filograma resultante por el gen ITS, de igual manera mostró la formación clara de dos grupos, alineando cada especie de *Fusarium* en uno de ellos. *F. falciforme* mostró una similitud mínima de 82.4 y máxima de 100 % con los aislamientos de *F. falciforme*, en el caso de los aislamientos de *F. oxysporum*, mostró una similitud mínima de 82.5 % y como

máxima 100 %. El grupo de *F. oxysporum* mostró pequeños clados diferentes; los aislamientos MH048074, MH048078 Y MH048079, mostraron una similitud de 100 % con el aislamiento reportado en México con número de accesión FJ643491 identificado como *F. oxysporum*, de igual manera 100% de similitud con el aislamiento reportado en Japón con número de accesión AB675383 aislado también del cultivo del tomate ubicándose de igual manera en el mismo clado. (Figura 10).

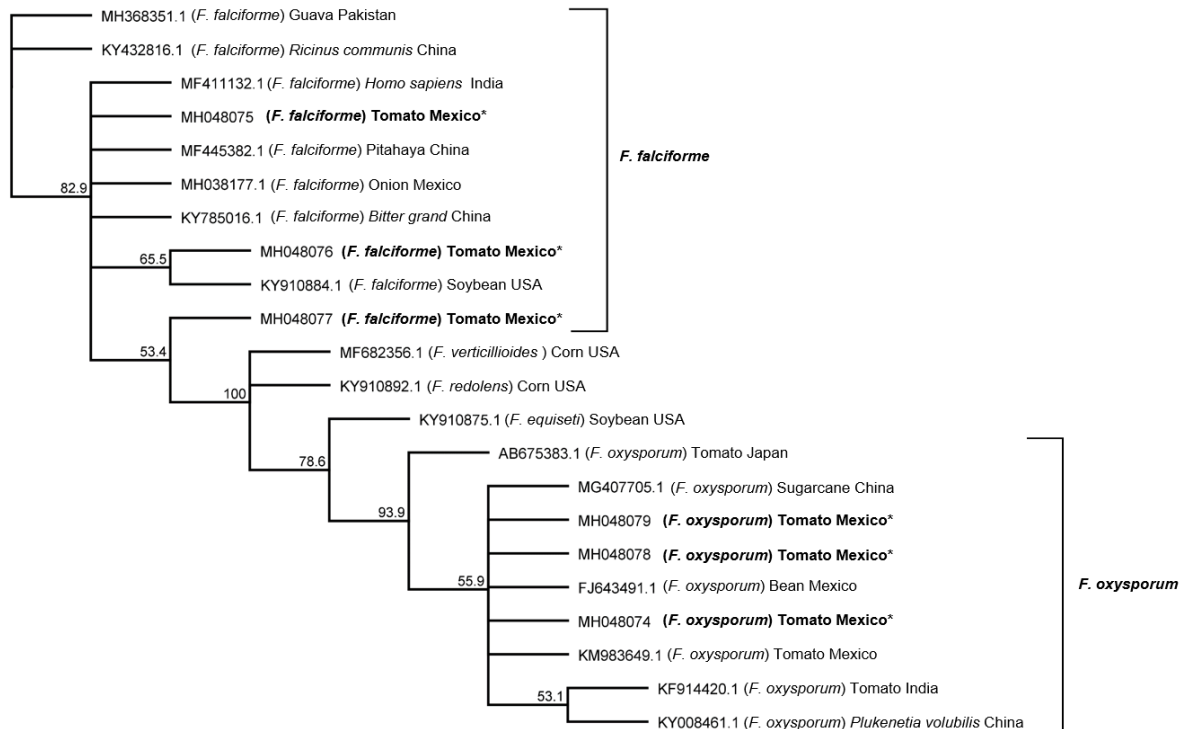


Figura 10. Dendrograma filogenético por el método de Neighbour joining en el alineamiento de nucleótidos de secuencias parciales del gen ITS de *F. falciforme* y *F. oxysporum*. Los valores en los nodos representan el porcentaje de núcleos de arranque (1000 repeticiones).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, se determinó que *F. oxysporum* y *F. falciforme* son el agente causal de la marchitez del tomate en el estado de Sinaloa. La presencia de *Fusarium oxysporum* .f sp. *lycopersici* como el agente causal de la marchitez del tomate en Sinaloa, ha sido reportada por varios autores, Valenzuela *et al.*, (1996), reporto por primera vez a FOL raza

3, Carrillo *et al.*, (2003), informo la presencia de FOL raza 2 y 3 en el valle de Culiacán, Ascencio *et al.*, (2008), informo la presencia de las 3 razas de FOL en el valle de Culiacán, 1 año después Cauich *et al.*, (2009) indica que en Sinaloa prevalece la raza 3 de FOL, estos resultados concuerdan con los resultados obtenidos en el presente trabajo, sin embargo *F. falciforme* ha sido reportado en una sola ocasión causando la marchitez del tomate en Sinaloa (Vega *et al.*, 2018).

La identificación morfológica fue confirmada mediante PCR utilizando cebadores para especies de *Fusarium* (TEF-1 α). Se obtuvieron las bandas esperadas con los pares de bases descritas en la literatura, tanto para *F. oxysporum* como *F. falciforme* propuestos por (Geiser *et al.*, 2004 y O' Donnell *et al.*, 1998). En el caso del gen ITS, se obtuvieron de igual manera las bandas esperadas con el peso molecular descrito por White *et al.* (1990). Los análisis filogenéticos muestran que las secuencias de *F. falciforme* para el gen ITS, se alinearon en el mismo grupo que especies de *F. solani* mostrando 100 % de similitud, por lo que se hizo un análisis de máxima similitud utilizando la secuencia EF1- α (gen TEF) comparadas con otras especies del complejo de especies de *Fusarium solani* (FSSC), revelando que están más relacionadas con una similitud de 100 % con *F. falciforme* (FSSC 3 + 4), esto es reportado por Hans-Josef *et al.* (2017), quienes demuestran que el concepto de morfología de *F. solani*, están generalmente dentro de la mayoría de las especies de todo el complejo (*F. petrophilum* = FSSC 1, *F. keratoplasticum* = FSSC 2, *F. falciforme* = FSSC 3+4 y *F. solani* = FSSC 5) por lo que se encuentra sin identificación molecular filogenéticamente, sugiriendo que se use complejo de especies de *Fusarium sonali* (FSSC) en lugar de *F. solani* para evitar confusiones, mismos resultados son reportados por O'Donnell *et al.* (2015). En el caso de *F. oxysporum*, el análisis filogenético por el gen ITS mostró 100 % de similitud en todos los aislamientos, sin embargo en el análisis mediante el gen TEF, los aislamientos obtenidos mostraron 98.8 % de similitud con el aislamiento reportado en USA, sin embargo mostró 100% de similitud entre nuestros aislados reportados en este estudio. La variabilidad genética entre los diferentes aislamientos que se muestra en el árbol filogenético puede estar relacionado con los diferentes orígenes geográficos del hospedante del que fueron aisladas, ya que, de acuerdo con los resultados obtenidos en diversos trabajos de filogeografía, señalan que las poblaciones de hongos fitopatógenos que infectan múltiples especies de plantas hospedantes pueden dividirse de acuerdo con su origen geográfico. Mismos resultados fueron reportados por Azevedo *et al.* (2017). Las diversas variaciones genéticas encontradas de acuerdo a la longitud de las ramas del árbol pueden atribuirse a variaciones de las condiciones climáticas que presentan los sitios de donde proceden los aislamientos, lo que favorece la co-evolución genética independiente del patógeno.

En la prueba de patogenicidad en las plantas de tomate, todos los aislamientos inoculados, mostraron un amarillamiento inicial a partir de la primera y segunda hoja, *F. oxysporum* y *F. falciforme* presentaron síntomas aéreos similares. Al observar la respuesta de los materiales diferenciales a la inoculación con los aislamientos de Fol colectados, se detectó la presencia de las tres razas conocidas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mismos resultados

reportados por Carrillo *et al.*, (2003) y Ascencio *et al.*, (2008). Boix-Ruíz *et al.* (2014) también encontraron diferentes niveles de variación para el rasgo de patogenicidad en *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* razas 2 y 3 bajo diferentes condiciones de temperatura. Sin embargo, la temperatura no es un factor único que influye en estos resultados. Las plantas infectadas con *F. falciforme* mostraron necrosis vascular y pudrición radical, también se observó blanqueamiento de la lámina foliar. Los aislamientos variaron en la incidencia de severidad de acuerdo con la velocidad con la que causaron los síntomas de la enfermedad pero al final causaron la muerte de las plantas inoculadas. Hasta donde sabemos, estos resultados representan el segundo informe de estos síntomas causado por *F. falciforme* en Sinaloa.

Se observaron diferencias en la agresividad de los diferentes aislamientos, sobre todo en la evolución de *F. falciforme*, que desde la primera semana de inoculación mostraron altos índices de severidad, sin embargo, *F. oxysporum* igualó los mismos valores de daño. Mismos resultados coinciden con los reportados en la enfermedad de pudrición basal por Geiser *et al.* (2004) y Leslie & Summerell (2006), mostrando que existe variación patogénica entre los aislamientos de la misma especie, e incluso dentro de la misma localidad, lo cual puede estar relacionado con la capacidad de la especie para generar los síntomas de la enfermedad de acuerdo a la variedad del hospedero.

LITERATURA CITADA

- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW and Lipman DJ. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-40.
- Blancard, D. 1997. A color Atlas of Tomato Diseases. Observation, Identification and Control. First Edition, John Wiley and Sons. New York, USA. 212 p.
- Cucuzza, J. Y Waterson, J. (1992): Foot rot of tomato caused by *Fusarium solani* in California. *Plant Dis.* 76: 101.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. [Internet]. [Revisado febrero 2017]. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/>
- Galanihe LD, Priyantha MGD, Yapa DR, Bandara HMS, Ranasinghe JADAR. 2004. Insect pest and diseases incidences of exotic hybrid Chilli pepper varieties grown in the low Country dry zone of Sri Lanka. *Annals of Sri Lanka.* 6:99-106.
- Geiser D., Jiménez Gasco M., Kang S., Makalowska I., Veeraraghavan N., Ward T. J., Zhang N., Kuldau G.A. and O'Donnell K. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying Fusarium. *European Journal of Plant Pathology.* USA. 110: 473-479.
- González, P. 2006. Enfermedades del tomate. Facultad de Agronomía. Montevideo Uruguay. <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/> [En -Línea]. Fecha de consulta. Marzo de 2016.
- González, G.R. y Sánchez, C.M.A. 1974. Principales enfermedades de las hortalizas en el valle de Culiacán. CIAPAN., I.N.I.A. México 79 p.

Hansen, H. N., and R. E. Smith. 1932. The mechanisms of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 37: 369-371.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2010. Guía técnica para el cultivo del tomate en el Valle de Culiacan.

Jarvis WR. 1989. Managing diseases in greenhouse crops. *Plant Dis.* 73:190–194.

Jones MM, Black LL. 1992. Response of *Capsicum* spp. to *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* and VCG characterization of pathogenic isolates. *Phytopathology* (Oregon), USA. APS Press; p. 1092.

Krebs, C. J. 1998. *Ecological methodology*. 2ed. Benjamin Cummings. California, EE. UU. 620 pp.

King SR, Davis AR, Zhang X, Crosby K. 2010. Genetics, breeding and selection of rootstocks for Solanaceae and Cucurbitaceae. *Sci Hortic.* 127:106–111.

Leslie J. F and Summerell B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing Ltd. 2006.

Marlatt, M. L. J.; Correll, J. C.; Kaufman, P. and Cooper, P. E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. *Plant Dis.* 80(12):1336-1342.

Marois JJ, Mitchell DJ. 1981. Effects of fumigation and fungal antagonists on the relationships of inoculum density to infection incidence and disease severity in *Fusarium* crown rot of tomato. *Phytopathology.* 71:167–170.

Moine LM, Labbe C, Louis-Seize G, Seifert KA, Belanger RR. 2014. Identification and detection of *Fusarium striatum* as a new record of pathogen to greenhouse tomato in northeastern America. *Plant Dis.* 98:292–298.

Miyao, B., Falk, B., Subbarao, K. y Stapleton, J. (2000). Tomato *Fusarium* foot rot. U.C. Pest Management Guidelines. Disponible en: <http://www.ipm.ucdavis.edu>

O'Donnell K. 2000. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca*- *Fusarium solani* species complex. *Mycologia.* 92:919–938.

O'Donnell K, Kistler H. C., Cigelnik E. and Ploetz R.C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA.* 95: 2044-2049

Rodriguez, D.A., Montilla, J.O., 2002. Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de citrus paradisi... *Manejo Integrado de plagas* (Costa Rica) No.63p.46-47.

SAS Institute. (1998). *SAS/STAT User's Guide*. Release 6.03 edition. SAS Institute Inc. Cary. Carolina del Norte, EUA. 364 pp.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, México. [Internet]. [Revisado mayo 2017]. Disponible en: www.siap.gob.mx.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 28:2731–2739.

Velarde-Félix S., Ortega-Murrieta P. F., Fierros-Leyva G. A., Padilla-Valenzuela I., Gutierrez-Pérez E., Rodríguez-Cota F. G., López-Valenzuela J. A., Acosta-Gallegos J. A. y Garzón-Tiznado J. A. (2015). Identificación molecular y biológica de las razas 0 y 5 de *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr f. sp. ciceris (Padwick) Matuo & K. Sato del garbanzo en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(4), 735-748

Vincenlli O, Tisserat N. 2008. Nucleic acid-based pathogen detection in applied plant pathology. *Plant Dis*. 92: 660-669.

Wolcan, S. y Lori, G. (1991). Podredumbre del pie del tomate, causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de La Plata* 12: 47-51.

SITUACIÓN DE LA RELACIÓN GANADO-JAGUAR (*Panthera onca* Linnaeus, 1758) EN UN CORREDOR BIOLÓGICO Y SU IMPACTO EN LA CONSERVACIÓN Y EL DESARROLLO COMUNITARIO EN SINALOA, MÉXICO

Rubio Rocha Yamel Gpe. ^{1*}, Gaxiola Camacho Soila M. ¹, Chávez Tovar Cuauhtémoc², Velázquez Alcaraz Teresa de J. ³; Reyes Oliva Alvaro⁴.

¹Estudiante Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa; ²Universidad Autónoma Metropolitana;

³Facultad Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa; ⁴Escuela Superior de Agronomía del Valle del Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa. Correo electrónico:

*yamel@uas.edu.mx

INTRODUCCIÓN

La conservación del jaguar (*Panthera onca*) es prioridad para México (SEMARNAT, 2009) por su rol en los ecosistemas como especie clave (Miller y Rabinowitz, 2002), es decir, regula las poblaciones de otras especies que pueden tornarse plaga. El jaguar, como otros grandes depredadores, es sensible a los cambios en el ecosistema provocados por las actividades humanas, entre ellas las agropecuarias, que reducen su hábitat y sus presas. Esta situación puede llevar a que el jaguar se alimente de ganado y los ganaderos cobren represalias matándolo (Hoogesteijn *et al.*, 2016). La matanza de jaguares es un hecho frecuente en las comunidades rurales aún cuando se sabe que es una especie en peligro de extinción (Chávez *et al.*, 2016) y que puede haber sanciones legales.

El aumento de la población humana y la necesidad de abrir nuevas áreas agropecuarias o inmobiliarias en la región (Monjardín *et al.*, 2017) afecta la cantidad de hábitat natural del jaguar y los sitios de conectividad (corredores biológicos) de sus poblaciones locales (De la Torre *et al.*, 2016). Por otro lado, esta su cacería y la de sus presas naturales; todos estos factores en su conjunto afectan la conservación de la especie por lo que es necesario tener una visión más integradora para explicar la problemática de extinción, abordando estos aspectos y sus posibles soluciones se puede lograr la conservación del felino.

En Sinaloa se ha estudiado el jaguar desde la perspectiva biológica y ecológica (Chávez *et al.*, 2016; Zanin *et al.*, 2016, Rubio *et al.*, 2016); en esta investigación se estimará el estado de la población de jaguar y se integrarán aspectos de manejo ganadero y ganadería sustentable. Se identificarán las áreas con interacción negativa entre jaguar-ganado y se evaluará su impacto en las poblaciones del jaguar, desarrollando una propuesta de un corredor biológico comunitario en el sur de Sinaloa. Se espera generar información que pueda contribuir al diseño e implementación de estrategias de mitigación y prevención de las interacciones antagónicas entre el ganado y el jaguar y con ello contribuir a una mejor relación entre los jaguares y las actividades humanas en el sur del estado.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El jaguar es el felino de mayor tamaño de América, y se encuentra en peligro de extinción prácticamente en toda su distribución (DOF, 2010; Chávez y Ceballos, 2014; De la Torre *et al.*, 2018). Aún cuando el jaguar tiene una amplia distribución geográfica, ha perdido más del 50% de su distribución histórica en el continente americano y en México se ha estimado que sólo habita el 40% de su hábitats originales; las principales causas de este fenómeno son la cacería ilegal en represalia por el ataque al ganado o simplemente por trofeo, pérdida de hábitats y escasez de presas naturales (Miller, 2002; Chávez y Ceballos, 2006; Garrote, 2012; Chávez *et al.*, 2016). Este último hecho pueden estar reflejando un desequilibrio ecológico en el ecosistema local que afecta al jaguar y va en búsqueda de alimento en los hatos ganaderos lo que cuesta la vida. Incluso, careciendo de la evidencia real de pérdida de ganado por ataque de jaguar, se le persigue y elimina, se argumenta que para evitar pérdidas ganaderas (Peña y Castillo, 2013).

En México, como en el resto del continente donde se distribuye los jaguares, los conflictos entre ellos y los ganaderos son habituales, conduciendo en ocasiones a serias pérdidas económicas a los ganaderos y a la matanza de jaguares (Rosas, Bender y Valdez, 2008; Garrote, 2012; Hoogesteijn *et al.*, 2016), por lo que este es uno de los aspectos más urgentes de atender para lograr la conservación del jaguar y de otros depredadores naturales que mantienen el equilibrio en los ecosistemas naturales (Inskip y Zimmerman, 2009). Peña y Castillo (2013), en Nuevo León, estimaron una pérdida económica para los ganaderos de 748,363.00 en un periodo de más de 15 años por la depredación de jaguar, citaron pérdidas reportadas por otros investigadores, por ejemplo en el sur de Brasil se registraron pérdidas por USD 699,670 (Mazzolli *et al.* 2002 citado por Peña y Castillo, 2013); y en Costa Rica son cercanas a los USD 60,000 (Moreno y Olmos 2008, citados por Peña y Catillo, 2013), solo por citar unos casos del impacto del jaguar sobre la ganadería, hecho que lleva a los ganaderos a cazarlo, principal factor que influye en la disminución de sus poblaciones e incluso a su extinción local (Silveira y Jácomo, 2002). Sin embargo, en algunos sitios se ha documentado que los jaguares y el ganado vacuno pueden coexistir cuando las presas nativas se encuentran disponibles y con densidades abundantes (Rabinowitz, 1986; Miller, 2002). Particularmente en la sierra de Sinaloa se ha observado como los jaguares se mueven en ranchos privados o alrededor de poblados pequeños y no se registran siniestros, aún cuando la ganadería es extensiva pero la abundancia de venados y pecarís es alta. La permanencia de este depredador y de otros como el puma (*Puma concolor*), depende en gran medida de la actitud de la gente local con la que comparten el hábitat (Miller, 2002; Peña y Castillo 2013).

HIPÓTESIS

Se parte de la premisa que los sitios con un manejo ganadero adecuado y mayor disponibilidad de presas naturales serán aquellos donde la depredación de ganado será nula o menor; en tanto, los mayores conflictos entre los ganaderos y la población de jaguar se darán en sitios donde la ganadería no esta sujeta a principios sustentables, es decir, no contemplan buenas prácticas de manejo que posibiliten la convivencia entre el depredador y el ganado, lo que puede derivar en un ataque al ganado y por lo tanto la cacería furtiva del jaguar, lo que aumenta el riesgo de extinción local de la especie.

OBJETIVOS

General

Determinar y diseñar con criterios socioecológicos el corredor biológico que conforman los municipios de San Ignacio y Concordia Sinaloa y su impacto en la conservación del jaguar y en el desarrollo comunitario.

Específicos

Estimar la distribución y la presencia del jaguar y sus presas en los municipios de San Ignacio y Concordia, Sinaloa.

Identificar los factores que inciden en la presencia de los jaguares a escala local y regional en los municipios de San Ignacio y Concordia, Sinaloa.

Analizar la relación ganado-jaguar en las comunidades rurales.

Identificar sitios y acciones para la conservación de las poblaciones de jaguar en convivencia con el ganado y las comunidades.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevará a cabo en las selvas secas del sur de Sinaloa, específicamente en los municipios de San Ignacio y Concordia. Se establecerán los sitios de monitoreo siguiendo el protocolo estandarizado para felinos mayores (Chávez *et al.* 2013), se estudiarán sitios de selvas secas conservadas y perturbadas para contrastar ambos ambientes y generar información sobre aspectos demográficos (abundancia, distribución), sobre características y uso de hábitat, abundancia de presas, registros de ataques al ganado y percepción social sobre la relación jaguar-ganado y la economía rural.

Para conocer la densidad del jaguar se implementará un experimento de captura-recaptura por fototrampeo (Chávez *et al.*, 2013). Cada sitio de muestreo se caracterizará en función de las siguientes variables densidad de población, extensión de hábitat natural y humano, uso de suelo, presencia de ranchos ganaderos, incidencia de cacería del felino y de sus posibles presas. Se evaluará la cubierta forestal en los últimos 10 años con las series de imágenes Land-Sat (De la Torre, Núñez y Medellín, 2016).

Se identificarán y caracterizarán los hábitats del jaguar en función de variables que describen el impacto humano en los corredores como la densidad humana, la cantidad de hábitat natural, los sitios de conectividad, el uso de suelo (intensivo o extensivo) para actividades agropecuarias, la presencia de ranchos ganaderos, la incidencia de cacería del depredador y de sus fuentes de alimento. Utilizaremos un análisis de componentes principales para determinar el grado total de disturbio y conservación en los sitios, lo que representará el potencial de los corredores como una herramienta para la conservación de los jaguares (Silveira *et al.*, 2016). Se evaluará la calidad del hábitat considerando el estado de conservación de la cubierta forestal a lo largo de los últimos 10 años, se analizarán series de imágenes Land-Sat (De la Torre *et al.*, 2016).

El enfoque de esta investigación socio-ecológico y participativo, ya que es necesario conocer la percepción y relación de las personas, sus actividades productivas y las afectaciones a la vida silvestre, para esto se diseñarán instrumentos de medición y se consultará literatura especializada, experiencias y expertos en el tema.

LITERATURA CITADA.

Chávez, C., Zarza H., De la Torre A., Medellín R., Ceballos G. 2016. Distribución y estado de conservación del jaguar en México. En *El Jaguar en el siglo XX. La perspectiva continental*. Medellín, R., A. de la Torre, H. Zarza, C. Chávez y G. Ceballos (Coords.) 47-92 pp.

Chávez, C., Ceballos G. 2014. Jaguar. En *Mammals of Mexico*. Ceballos, G. (Ed.). Johns Hopkins University Press. Baltimore. 507-509 pp.

Chávez, C., Ceballos, G. 2006. Memorias del Primer Simposio. *El Jaguar Mexicano en el Siglo XXI: Situación Actual y Manejo*. CONABIO-Alianza WWF Telcel-Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

Chávez C., De la Torre A., Bárcenas H. Medellín R., Zarza H., Ceballos G. 2013. Manual de fototrampeo para estudio de fauna silvestre. *El Jaguar en México como estudio de caso*. 103 pp.

Chávez C., Zarza H., De la Torre A., Medellín L. A., Ceballos G. 2016. Distribución y estado de conservación del jaguar en México. En *El Jaguar en el siglo XX. La perspectiva continental*. Medellín, R., De la Torre A., Zarza H., Chávez C., Ceballos G. (Coords.).

De la Torre, A., González M. J., Ceballos G., Medellín R. 2018. The jaguar's spots are darker than they appear: assessing the global conservation status of the jaguar *Panthera onca*. *Orix* 52(2): 300-315.

De la Torre, A., Núñez J., Medellín R. 2016. Habitat availability and connectivity for jaguars (*Panthera onca*) in the Southern Mayan Forest: Conservation priorities for a fragmented landscape: DOI: 10.1016/j.biocon.2016.11.034.

DOF. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (NOM-059-SEMARNAT-2010) Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial 30/12/2010.

Garrote G. 2012. Depredación del jaguar (*Panthera onca*) sobre el ganado en los llanos orientales de Colombia. Mastozoología neotropical, 19(1), 139-145. Recuperado en 24 de mayo de 2018, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0327-93832012000100012&lng=es&tlng=es.

Hoogesteijn A., López C., Núñez R., Rosas O., Febles J. 2016. El jaguar y las comunidades rurales: uso de densidad humana y bovina para identificar zonas de conflicto a nivel nacional en México. En Castaño U. C., Lasso C., Hoogesteijn R., Díaz P. A., Payán E. (Editores). II. Conflictos entre felinos y humanos en América Latina. Serie Editorial Fauna Silvestre Neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH), Bogotá, D. C., Colombia.

Inskip C., Zimmermann A. 2009. Humand-felid conflict: a review of patterns and priorities worldwide. En Oryx Vol. 43: 18-34. DOI: 10.1017/S003060530899030X

Miller, C. 2002. Jaguares, ganado y humanos: un ejemplo de coexistência pacífica en el noroeste de Belice. En El Jaguar en el Nuevo Milenio. Medellín, R., Equihua C., Chetkiewicz C., Crawshaw Jr P., Rabinowitz A., Redford K., Robinson J., Sanderon E., Taber A. (Comps.). FCE-UNAM-WCS. 477-491 pp.

Miller, B., Rabinowitz A. 2002. ¿Porqué conservar al jaguar?. En El Jaguar en el Nuevo Milenio. Medellín R., Equihua C., Chetkiewicz C., Crawshaw Jr P., Rabinowitz A., Redford K., Robinson J., Sanderon E., Taber A. (Comps.). FCE-UNAM-WCS. 303-315 pp.

Monjardín A. S., Pacheco A. C., Plata R. W., Corrales B. G. 2017. La deforestación y sus factores causales en el estado de Sinaloa, México. En Madera y Bosques. 23 (1): 7-22. Versión On-line ISSN 2448-7597, versión impresa ISSN 1405-047. DOI: 10.21829/myb.2017.2311482

Peña M. J., Castillo A. 2013. Depredación de ganado por jaguar y otros carnívoros en el noreste de México. En THERYA Vol. 4(3): 431-446. DOI: 10.12933/therya-13-153.

Rabinowitz A. 1986. Jaguar predation on domestic livestock in Belize. En Wildlife Society Bulletin

Rosas R. O., Bender L., Valdez R. 2008. Jaguar and puma predation en cattle calves in Northeastern Sonora, Mexico. En *Rangeland Ecol Manage* 61:554-560. DOI:10.2111/08-038.1

Rubio Y., Medellín R., Bárcenas H., De la Parra A., Moctezuma O., López C., Moreno E., List R. 2016. Región Noroeste: Sonora y Sinaloa. En Chávez C., Zarza H., De la Torre A., Medellín R., Ceballos G. Cap. II La distribución y el estado de Conservación del Jaguar en México. En *El Jaguar en el Siglo XXI, la perspectiva continental*. Medellín R., De la Torre A., Zarza H., Chávez C., Ceballos G. (Coords.). Ediciones Científicas Universitarias UNAM-FCE. Pp. 77-81.

SEMARNAT. 2009. Programa de Acción para la Conservación de la Especie Jaguar (*Panthera onca*). México

Silveira L., Torres N., Sollmann R., Furtado M., Jáximo A., Diniz J. 2016. Corredores del jaguar en Brasil: conectando poblaciones protegidas. En *El Jaguar en el Siglo XXI, la perspectiva continental*. Medellín R., De la Torre A., Zarza H., Chávez C., Ceballos G. (Coords.). Ediciones Científicas Universitarias UNAM-FCE. Pp. 434-446.

Silveira L., Jacomo, A. 2002. Conservacion del jaguar en el centro del Cerrado de Brasil En *El Jaguar en el Nuevo Milenio*. Medellín, R., Equihua C., Chetkiewicz C., Crawshaw Jr P., Rabinowitz A., Redford K., Robinson J., Sanderon E., Taber A. (Comps.). FCE-UNAM-WCS. Pp. 437-450.

Zanin, M., Adrados B., González N., Roques S., Brito D., Chávez C., Rubio Y., Palomares F. 2016. Gene flow and genetic structure of the puma and jaguar in Mexico. *European Journal of Wildlife Research*. 62:461-469. DOI:10.1007/s10344-016-1019-8

SUCESIÓN E INTERACCIÓN BACTERIANA Y MICROALGAL EN UN SISTEMA HIPERINTENSIVO DE CAMARÓN BLANCO (*Penaeus vannamei*)

Luis Humberto Madero López¹, Mario Nieves Soto¹, Sonia Araceli Soto Rodríguez², Otoniel Carranza Días¹, Miguel Ángel Hurtado Oliva¹, Paola Magallón Servín³.

¹Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR-UAS, Mazatlán), ²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD Unidad Mazatlán), ³Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR Unidad La Paz).

¹Programa de Doctorado en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR-UAS, Mazatlán). Correo electrónico: lhmadlo.facimar@uas.edu.mx

CAPITULO I. CRECIMIENTO DE MICROALGAS MARINAS EN CO-CULTIVO CON TRES CEPAS BACTERIANAS DE IMPORTANCIA ACUÍCOLA

En este capítulo se describe el crecimiento de las microalgas marinas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira weissflogii* y *Nannochloropsis oculata* en los experimentos de co-cultivo individual con dos cepas bacterianas de *Vibrio parahaemolyticus* con diferentes grados de virulencia y positivas para la enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguada (AHPND por sus siglas en inglés), como control negativo se utilizó una cepa *Photobacterium sp.* inocua para AHPND, con la finalidad de establecer la afinidad y antagonismo *in vitro* bacteria-microalga en términos de crecimiento bacteriano y microalgal. El objetivo planteado es el evaluar el crecimiento de estas tres cepas bacterianas de importancia acuícola en presencia de las microalgales marinas *I. galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *T. weissflogii* y *N. oculata* en un sistema de co-cultivo individual *in vitro*, para poder aportar información en materia de bioseguridad acuícola y control de las variables de calidad de agua en dichos cultivos. En este capítulo se establecen las relaciones directas entre dos microalgas de importancia acuícola con respecto a las bacterias patógenas que están impactando actualmente de manera negativa a la camaronicultura como una alternativa de manejo para lograr mitigar el efecto patógeno de estas bacterias y a su vez lograr obtener un mayor aprovechamiento de las fuentes de energía disponible en los sistemas acuícolas.

CHAPTER I. GROWTH OF MARINE MICROALGAE IN CO-CULTIVATION WITH THREE BACTERIAL STRAINS OF AQUATIC CULTURE IMPORTANCE

In this chapter we describe the growth of marine microalgae of *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira weissflogii* and *Nannochloropsis oculata* under individual co-cultivation experiments with two bacterial strains of *Vibrio parahaemolyticus* with different degrees of virulence, and positive for Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND). A *Photobacterium sp.* strain was used as a negative control, safe for

AHPND, in order to establish the affinity and antagonism *in vitro* bacteria-microalgae in terms of bacterial and microalgal growth. The objective is to evaluate the growth of these three bacterial strains of aquaculture importance in the presence of the marine microalgae *I. galbana*, *C. calcitrans*, *T. weissflogii* and *N. oculata* in an individual co-culture system *in vitro*, in order to provide information on biosecurity aquaculture and control of water quality variables in these cultivation. This chapter establishes the direct relationships between two microalgae of aquaculture importance with respect to the pathogenic bacteria that are currently negatively impacting shrimp farming, as an alternative management to mitigate the pathogenic effect of these bacteria, and in turn achieve a greater use of available energy sources in aquatic systems.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos 30 años el aumento de epizootias ha tenido un impacto negativo en la producción de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) ocasionado principalmente por el aumento de los residuos generados antropogénicamente y la resistencia bacteriana generada por el uso excesivo e inadecuado de agentes antimicrobianos, son algunos de los inconvenientes que han venido impactando negativamente al desarrollo de los cultivos acuícolas (Martins *et al.*, 2019). A pesar de que las enfermedades virales han sido la principal causa de mortalidades en los cultivos de camarón, en la actualidad las bacterias empezaron a tomar especial importancia como uno de los principales agentes patógenos causantes de mortalidades en la camaronicultura, como lo son las enfermedades causadas por las bacterias del género *Vibrio* (Chumpol *et al.*, 2019; Soto Rodríguez *et al.*, 2010; Kennedy *et al.*, 2006). Por lo anterior y ya que en los cultivos acuícolas estas condiciones que propician el crecimiento bacteriano son generalmente recurrentes, es imperativo conocer la dinámica de las comunidades bacterianas patógenas presente en los cultivos acuícolas. Una de las alternativas planteadas para mitigación del crecimiento de dichas comunidades bacterianas, es el conocimiento de las relaciones antagónicas existentes con las comunidades microalgales. Diversas investigaciones a nivel de laboratorio y en campo han demostrado fenómenos de estímulo e inhibición de crecimiento en microalgas y/o bacterias (Kogure *et al.*, 1979; Tarutani 2000; Sánchez-Saavedra *et al.*, 2010), evidenciando la posibilidad que en ecosistemas acuáticos las interacciones bacteria-fitoplancton sean específicas (especie-especie), provocando un efecto positivo (simbiosis) o negativo (antagonismos), dependiendo de las condiciones del sistema.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A partir de diversos estudios realizados a nivel nacional e internacional, así como el impacto negativo que ha presentado la camaronicultura por la incidencia del agente patógeno *V. parahaemolyticus* causante de la Enfermedad de la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas (AHPND) que ha ocasionado innumerables pérdidas económicas a nivel nacional e internacional, por lo cual se ha destacado la importancia del estudio del efecto de esta

nueva enfermedad emergente y principalmente la búsqueda de alternativas que nos permitan atenuar este efecto negativo en los cultivos intensivos e hiperintensivos de camarón. Una de estas alternativas posibles es el estudio de las comunidades microalgales presentes en los cultivos acuícolas ya que estos microorganismos pueden presentar relaciones de tipo inhibitorio o por otra parte fomentar el crecimiento bacteriano, es bajo este enfoque que el estudio de la interacción existente de las comunidades bacterianas y microalgales nos permitirán entender las relaciones existentes entre estos microorganismos en los cultivos de camarón. Posteriormente se podrá establecer la viabilidad del aprovechamiento de la integración del uso de comunidades microalgales a los cultivos acuícolas en su fase de engorda para la atenuación de los problemas sanitarios.

HIPÓTESIS

La microalgas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* *Thalassiosira weissflogii* y *Nannochloropsis oculata* atenuarán el crecimiento de dos bacterias potencialmente patógenas del género *Vibrio* en condiciones de co-cultivo individual.

Objetivo general

Evaluar el crecimiento de dos cepas bacterianas de importancia acuícola en presencia de las microalgales marinas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *T. weissflogii* y *Nannochloropsis oculata* en un sistema de co-cultivo individual *in vitro*.

Objetivos específicos

- 1.- Evaluar el crecimiento de las microalgas marinas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans*, *Thalassiosira weissflogii*, *Nannochloropsis oculata* y de dos cepas de *Vibrio parahaemolyticus* causantes de AHPND con diferentes grados de virulencia en un ensayo de co-cultivo *in vitro*.
- 2.- Cuantificar la concentración de lípidos y carbohidratos presentes en las células microalgales *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros calcitrans* *T. weissflogii* y *Nannochloropsis oculata* en co-cultivo con las tres cepas bacterianas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sistema experimental co-cultivo bacteria-microalga

El experimento fue dividido en dos partes con la finalidad de obtener mayor precisión en el análisis de las muestras, el primer experimento se realizó con las microalgas *I. galbana* y *C. calcitrans*, mientras que en el segundo se utilizarán *Thalassiosira weissflogii* y *Nannochloropsis oculata*.

Primeramente, se llevó a cabo la activación de las cepas de *V. parahaemolyticus*; M0904 altamente virulenta (VP AHPND⁺⁺⁺), M0607 moderadamente virulenta (VP AHPND⁺⁺) y se usó la cepa M0903 correspondiente a *Photobacterium sp.* (AHPND⁻) como control negativo.

Los inóculos bacterianos de los tubos madre son sembrados en placas de agar de soja tríptico con adición de 2% de cloruro de sodio (TSA + 2% de NaCl) durante 24 horas a una temperatura de 30 °C, posteriormente se procedió a realizar los ajustes de las densidades ópticas (DO) para cada una de las cepas de bacterianas, ajustando las muestras a una DO de 0.4 y una absorbancia de 600 nm, lo cual tiene como resultado una densidad bacteriana de 1x10⁸ UFC ml⁻¹.

Sistemas experimental e inóculos de bacterianos en cultivos microalgales

Durante la primera parte del ensayo *in vitro* de crecimiento y antagonismo microalgal se utilizaron las microalgas marinas de *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros calcitrans*, mientras que en la segunda etapa de experimentación se utilizaran las cepas *T. weissflogii* y *Nannochloropsis oculata*, en cada una de las etapas de experimentación se lleva a cabo de manera individual el co-cultivo de cada cepa microalgal con las tres cepas de bacterianas; M0904, M0607 y M0903, con la finalidad de corroborar que el crecimiento bacteriano no es afectado por el medio nutritivo F/2.

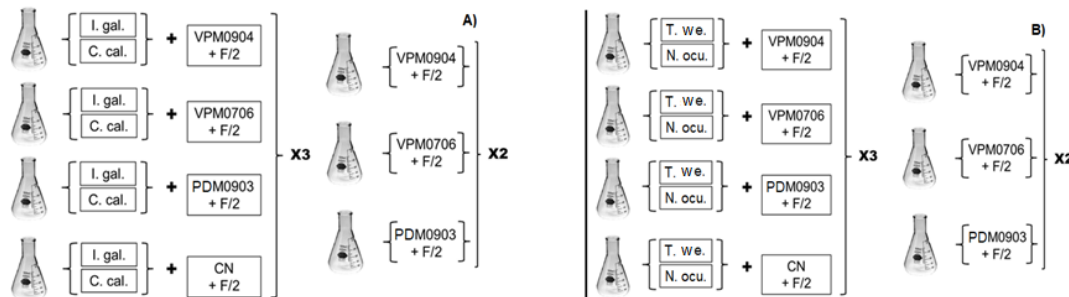


Fig. 1.- Diseño experimental de infección microalgal con tres cepas bacterianas de importancia en acuicultura. Cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (M0904, M0607), *Photobacterium damsela* (M0903), control negativo (CN) y medio de cultivo microalgal F/2 (F/2). **A)** *Isochrysis galbana* (I. gal.), *Chaetoceros calcitrans* (C. cal.), **B)** *T. weissflogii* (T.we.) y *Nannochloropsis oculata* (N.ocu.).

A cada uno de los matraces estériles de 125 ml se les agregan 100 ml de microalga en medio de cultivo F/2 con silicatos para el caso de *C. calcitrans* (1.24x10⁷ cel/mL) y 100 ml en medio F/2 sin silicatos para el caso de *I. galbana* (1.73x10⁷ cel/mL), de manera similar *T. weissflogii* será cultivada en medio de cultivo F/2 con silicatos y *Nannochloropsis oculata* en medio F/2 sin silicatos, agregando 100 ml del medio de cultivo correspondiente durante la segunda etapa de experimentación. Posteriormente se les inocula 100 µl de la cepa de bacteriana correspondiente para ser montados en condiciones controladas de laboratorio a una temperatura de 24-26 ± 2 °C, humedad ≤ 50% y un fotoperiodo 12:12 durante 72 horas desde el inicio del experimento (fig. 2).



Fig. 2.- Experimento de co-cultivo microalga-patógeno. A) cultivos de microalgas en medio F/2 + Cepas bacterianas, B) medio F/2 + Cepas bacterianas.

Toma y procesamiento de muestras

Las muestras son obtenidas a las 0, 24, 48 y 72 horas bajo condiciones de esterilidad desde el inicio del experimento, para lo cual se toman 5 ml para determinación de carbohidratos, 5 ml para lípidos, 10 ml para análisis metagenómico, 15 ml para análisis de hibridación fluorescente in situ (FISH), 1 ml para conteo celular en cámara Neubauer y 1 ml para la evaluación del crecimiento bacteriano en placa.

Conteo de células microalgales

El crecimiento microalgal es estimado directamente por recuento celular utilizando un microscopio compuesto con un aumento de 40X y un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad con reglilla de Neubauer, los conteos son realizados considerando 4 cuadrantes de 1 mm² por montaje y cada muestra es contada por triplicado.

Evaluación de crecimiento bacteriano

La evaluación es expresada en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC ml⁻¹) de las muestras de los tratamientos tomadas a las 0, 24, 48 y 72 horas del experimento, utilizando plaques directos en medio de cultivo TSA + NaCl 2% (p/v) para conteo de microorganismos aerobios y anaerobios totales y medio de agar tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS) para determinación de colonias tipo *Vibrio*.

Determinación de carbohidratos y lípidos

Las muestras para determinación de lípidos se analizaron de acuerdo con la metodología descrita por de-Bashan *et al.*, 2002, mientras que la determinación de carbohidratos se realizó con la técnica descrita por Choix 2014.

Comunidades bacterianas por análisis metagenómico

Las muestras para análisis metagenómico fueron colocadas en tubos Falcon de 15 ml y centrifugadas a 4,000 rpm durante 20 minutos, posteriormente se eliminó el sobrenadante y

se le agregaron 10 ml de etanol al 96% para su fijación, finalmente las muestras fueron guardadas a temperatura ambiente para su posterior análisis metagenómico.

Análisis de hibridación fluorescente in situ (FISH)

De las muestras microalgales conservadas a 4 °C de y sus diferentes tratamientos con las cepas de *V. parahaemolyticus* se procede a realizar la fijación para su análisis de hibridación fluorescente in situ de acuerdo con la metodología descrita por Zhang *et al.*, 2015 (anexo 5).

Análisis estadístico

Las tasas de crecimiento bacteriano, crecimiento microalgal, determinación de carbohidratos y lípidos totales, fueron comparados por análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido por la prueba post hoc de Tukey para evaluar las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las medias.

Resultados primera fase experimental

Crecimiento de *C. calcitrans* e *I. galbana* en co-cultivo con tres cepas bacterianas

En las figuras 3 se observa la ausencia de diferencias significativas ($P = 0.73$) en el crecimiento de *C. calcitrans*, así como en *I. galbana* ($P = 0.12$) a través del tiempo de experimentación en presencia de las tres cepas bacterianas, así como en usencia de estas (Fig. 3).

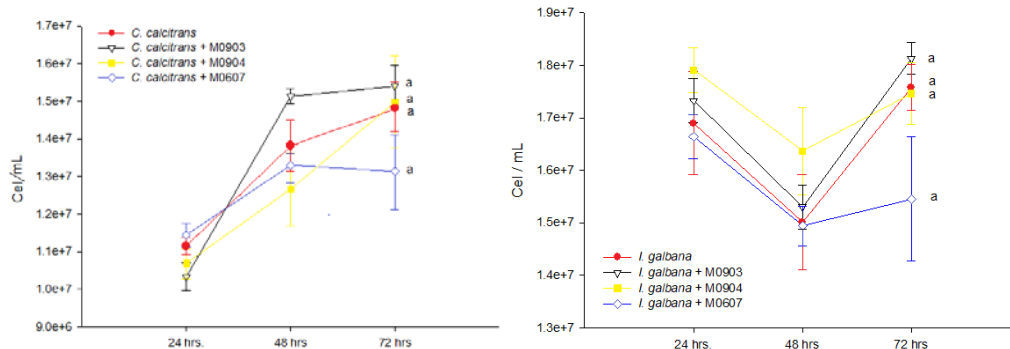


Figura 3.- Densidad celular de *C. calcitrans* (izquierda) e *I. galbana* (derecha) a diferentes tiempos de experimentación en co-cultivo con tres cepas bacterianas. Las letras iguales muestran la ausencia de diferencias significativas

Crecimiento de comunidades bacterianas en co-cultivo con *C. calcitrans* e *I. galbana*

El crecimiento de las comunidades bacterianas en co-cultivo con la microalga *C. calcitrans* e *I. galbana* mostraron una tendencia similar en donde se encontró que tanto los controles *C. calcitrans* e *I. galbana* como la cepa M0903 en ambos casos de co-cultivo, no presentaron crecimiento bacteriano durante las 72 horas de experimentación. Por otra parte, las cepas M0904 y M0607 mostraron una disminución de crecimiento durante las primeras 24 horas de cultivo y posteriormente se mantuvieron entre 2 y 4 log UFC/mL para *C. calcitrans* e *I. galbana* respectivamente durante todo el periodo de experimentación, encontrándose

diferencias significativas ($P = <0.001$) en los tratamientos M0904 y M0607 con respecto a los tratamientos control (*C. calcitrans* e *I. galbana*) y al tratamiento con la cepa M0903 (fig. 4).

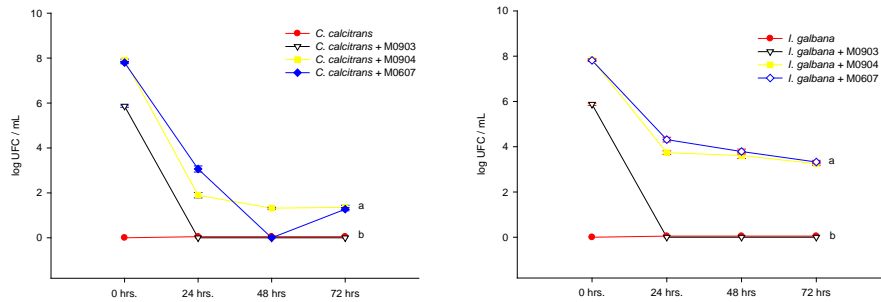


Figura 4.- Crecimiento de tres cepas bacterianas a diferentes tiempos de experimentación en co-cultivo con *C. calcitrans* (izquierda) e *I. galbana* (derecha). Letras diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos.

En cuanto al crecimiento bacteriano encontrado en los tratamientos control con medio de cultivo F/2 sin presencia de inóculo microalgal para el caso de las cepas M0904 y M0607 mostraron un comportamiento similar en donde se observó un decaimiento a partir del inicio del cultivo que fue de las 7.84 ± 0.07 log UFC/mL y se mantuvo en 5.14 ± 1.45 log UFC/mL a las 24 horas y hasta el final del experimento, encontrándose diferencias estadísticas ($P = <0.001$) con el tratamiento con la cepa M0903 la cual se mantuvo en 4.21 ± 2.25 log UFC/mL partir de las 24 horas de cultivo (fig. 5).

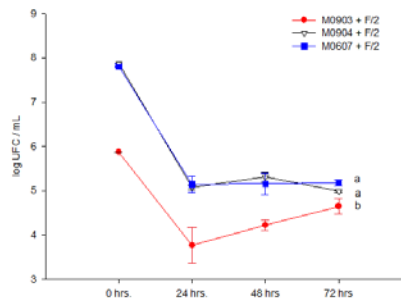


Figura 5.- Crecimiento de tres cepas bacterianas a diferentes tiempos de experimentación en medio de cultivo F/2. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre tratamientos.

7.3.- Carbohidratos y lípidos totales en co-cultivo de *C. calcitrans* e *I. galbana* en presencia de cepas bacterianas

En el caso de la concentración de carbohidratos totales, se encontró que tanto en el cultivo de *C. calcitrans* e *I. galbana* se presenta una tendencia al aumento de la concentración de carbohidratos totales en los cultivos microalgales conforme al tiempo de cultivo, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos a través del tiempo de experimentación en las cepas M0904 y M0607 en el co-cultivo de *C. calcitrans*, mientras que

para el caso de *I. galbana* las diferencias se observaron en las cepas M0903 y M0904 (fig. 6).

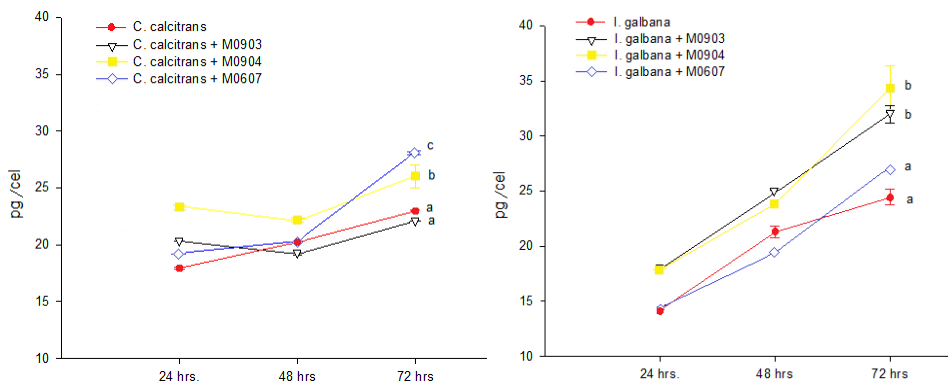


Figura 6.- Carbohidratos totales (mg mL⁻¹) de *C. calcitrans* (izquierda) e *I. galbana* (derecha) a diferentes tiempos de experimentación en co-cultivo con tres cepas bacterianas. Las letras iguales muestran la ausencia de diferencias significativas.

La concentración total de lípidos fue menor en el cultivo de *C. calcitrans* y sus respectivos tratamientos, encontrando las mayores concentraciones en los tratamientos con las cepas bacterianas M0903 y M0607 (285 y 318 pg/cel respectivamente), presentando diferencias estadísticas ($P = 0.003$) con el tratamientos control (*C. calcitrans*) y la cepa M0904.

En el experimento de co-cultivo de *I. galbana* en presencia de las tres cepas bacterianas, los tratamientos con el inóculo bacteriano M0903 y M0904, así como el control (*I. galbana*) no presentaron diferencias significas entre ellos ($P > 0.05$), mientras que el tratamiento con el inóculo de la cepa M0607 presento los niveles más elevados de lípidos totales con una concentración de 1086 pg/cel presentando diferencias estadísticas ($P = 0.001$) con respecto a los demás tratamientos (fig. 7).

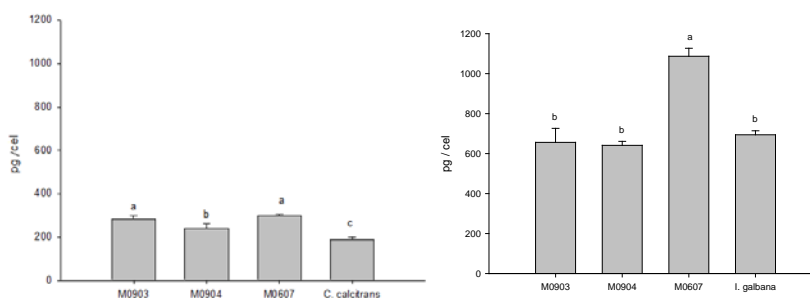


Figura 7.- Lípidos totales (µg/mL) de *C. calcitrans* (izquierda) e *I. galbana* (derecha) a diferentes tiempos de experimentación en co-cultivo con tres cepas bacterianas. Letras diferentes muestran diferencias significativas.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se encontró que los patrones de crecimiento de *C. calcitrans* e *I. galbana* fueron diferentes, esto puede ser atribuido de los tamaños celulares y al ritmo de crecimiento de cada cepa microalgal presentando las mayores densidades de cultivo con *I. galbana* desde el inicio del experimento, lo cual puede ser atribuido a su menor tamaño y la mayor capacidad de asimilación de nutrientes (Fogg, 1983). Se ha informado que las especies de menor tamaño como es el caso de *I. galbana* crecen más rápido que aquellas de mayor tamaño, debido principalmente a una mayor proporción de células por mililitro, lo cual facilita la asimilación de nutrientes a un ritmo relativamente más rápido (Phatarpekar *et al.*, 2000).

Si bien, el crecimiento de las células microalgales no fue afectado por la inoculación de cepas bacterianas, si se observaron diferencias en el crecimiento bacteriano de los diferentes tratamientos con presencia y ausencia de estos agentes patógenos. En el caso de las cepas bacterianas de *V. parahaemolyticus* con patogenicidad moderada y alta (M0607 y M0904 respectivamente) en los co-cultivos con *C. calcitrans* e *I. galbana*, mostraron un comportamiento hacia la disminución de las UFC/ml con respecto al tiempo de exposición, manteniéndose relativamente estables a partir de las 48 horas de cultivo con un promedio de 0.987 ± 0.12 y 3.493 ± 0.5 log UFC/mL (*C. calcitrans* e *I. galbana* respectivamente). Por otra parte, la cepa con *Photobacterium sp.* (M0903) decayó completamente a las 24 horas de cultivo en ambos sistemas experimentales, indicando una inhibición de crecimiento de la misma, la cual puede ser atribuida a la presencia de cepas microalgales. Salvesen *et al.*, (2000) mencionan que las microalgas pueden inhibir o promover el crecimiento bacteriano por medio de la producción de exudados orgánicos. Dentro del grupo de compuestos microalgales que afectan el crecimiento bacteriano tenemos los aldehídos polinsaturados extracelulares de las diatomeas, estos compuestos muestran diferentes efectos sobre el crecimiento bacteriano tales como la inhibición o estimulación dependiendo de la especie bacteriana (Ribalet *et al.*, 2008), como se presentó en la investigación realizada por Gómez Gil *et al.*, (2002) en donde observó un mayor crecimiento de *Vibrio alginolyticus* en la presencia de la microalga *Chaetoceros muelleri*. En el caso de *I. galbana* Molina Cárdenas *et al.*, (2014) encontró que estas microalgas producen sustancias antibacterianas que inhiben el crecimiento de patógenos como lo son *V. alginolyticus*, *V. campbelli* y *V. harveyi*, sin la necesidad del uso de sustancias químicas, pero también encontraron una ausencia de inhibición hacia *V. parahaemolyticus*. Estos resultados podrían explicar la disminución de las comunidades bacterianas de las cepas M0904 y M0607 a partir de las 48 horas de cultivo y en el caso de la cepa M0903 la cual es una cepa bacteriana de la familia Vibrionaceae presentó estudio un alto grado de inhibición. Los diferentes grados de inhibición del presente estudio con las investigaciones disponibles actualmente podrían atribuirse a las disparidades genéticas de las cepas tanto bacterianas como microalgales.

Por otra parte, en el presente estudio se observó una menor concentración de lípidos en los tratamientos con *C. calcitrans*, encontrando un aumento de la concentración de lípidos totales en los inóculos con las cepas bacterianas M0903 y M0607, presentando la menor

concentración en el tratamiento control y con el inóculo de la cepa M0904, lo que indica que la inoculación bacteriana tiene un efecto sobre la producción de ácidos grasos sobre diferentes cepas bacterianas. En el caso de *I. galbana*, la producción de lípidos totales fue mayor en todos los tratamientos que con *C. calcitrans* pero el comportamiento fue diferente, ya que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos a excepción del tratamiento con la cepa M0607, la cual a su vez presentó las concentraciones de lípidos totales mayores (1086 pg/cel), lo que nos indica que la producción de ácidos grasos podría no estar tan ampliamente relacionada con la carga bacteriana en los cultivos microalgales, lo que contradice los trabajos realizados por varios investigadores en donde encontraron que *I. galbana* produce altas cantidades de ácidos grasos que son liberados cuando las células son lisadas y podrían funcionar como componentes antibacterianos (Molina Cárdenas *et al.*, 2014, Fabregas *et al.*, 1999).

En cuanto a las concentraciones de carbohidratos totales estas fueron similares en *C. calcitrans* e *I. galbana*, en donde el nivel máximo fue de 34.8 pg/cel. Estos compuestos juegan un rol importante ya que son contenidos generalmente en los exudados microalgales como componente principal, seguido de los productos nitrogenados y vitaminas (Watanabe *et al.*, 2008, Underwood *et al.*, 2004). Watanabe *et al.*, (2008) demostraron que las bacterias simbióticas utilizan la sacarosa como el principal hidrato de carbono para la formación de las vainas de mucilagos algales, siendo sugerida esta capa de mucilago como el sustrato preferido para la unión y crecimiento de bacterias (Grossart *et al.*, 2005). Por lo que la presencia de fuentes de carbono en forma de carbohidratos podría explicar que las densidades bacterianas en este estudio se mantuvieran relativamente estables después de las 24 horas de cultivo en ambos co-cultivos con las cepas M0904 y M0607 debido al sustrato disponible de polisacáridos que ayude a atenuar el posible efecto bacteriostático ocasionado por compuestos de los ácidos grasos, el hecho de la inhibición de crecimiento de la *Photobacterium sp.* (M0903) podría ser debido a la mayor sensibilidad a los compuestos inhibitorios de dichos compuestos lipídicos.

Conclusión

Los inóculos bacterianos M0903, M0904 y M0607 no presentan un efecto directo sobre el crecimiento de las microalgas marinas *C. calcitrans* e *I. galbana*.

Los resultados en este trabajo aportan información de la interacción existente entre comunidades microalgales y bacterianas, para su posible uso como una alternativa para la mitigación de fauna bacteriana nociva en cultivos acuícolas.

Literatura citada

Chumpol, S., Kantachote, D., Rattanachuy, P., Torpee, S., Nitoda, T., y Kanzaki, H. 2019. Optimization of culture conditions for production of antivibrio compounds from probiotic

purple nonsulfur bacteria against acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio* spp. *Aquaculture*.

Fogg G.E. 1983. The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Botanica marina* 26:3-14.

de-Bashan L.E., Bashan, Y., Moreno, M., Lebsky, V.K., y Bustillo, J.J., 2002. Increased pigment and lipid content, lipid variety, and cell and population size of the microalgae *Chlorella* spp. when co-immobilized in alginate beads with the microalgae-growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Canadian Journal of Microbiology*. 48: 514–521

Gomez-Gil B., Roque, A. and Velasco-Blanco, G. 2002. Culture of *Vibrio alginolyticus* C7b, a potential probiotic bacterium, with the microalga *Chaetoceros muelleri*. *Aquaculture* 211: 43-48.

Grossart H.P., Levold, F., Allgaier, M., Simon, M. and Brinkhoff, T, 2005. Marine diatom species harbor distinct bacterial communities. *Environmental Microbiology* 7: 860-873.

Martins F.M., Pinheiro, T.L., Imperatori, A., Freire, S.M., Sá-Freire, L., Moreira, B.M., y Bonelli, R.R. 2019. *Plesiomonas shigelloides*: A notable carrier of acquired antimicrobial resistance in small aquaculture farms. *Aquaculture*, 500: 514-520.

Molina-Cárdenas C.A., del Pilar Sánchez-Saavedra, M. and Lizárraga-Partida, M.L. 2014. Inhibition of pathogenic *Vibrio* by the microalgae *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*. 26:2347-2355.

Kennedy B., Venugopal, M.N., Karunasagar, I. 2006. Bacterial flora associated with the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in the hatchery system. *Aquaculture* 216: 1156-1167.

Kogure K., Simidu, U. and Taga, N. 1979. Effect of *Skeletonema costatum* (Grev) Cleve on the growth of marine bacteria. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 36: 201-215.

Phatarpekar P.V., Sreepada, R.A., Pednekar, C., and Achuthankutty, C.T. 2000. A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. *Aquaculture* 181:141-155.

Ribalet F., Intertaglia, L., Lebaron, P. and Casotti, R. 2008. Differential effect of three polyunsaturated aldehydes on marine bacterial isolates. *Aquatic Toxicology* 86:249-255.

Salvesen I., Reitan, K.I., Skjermo J. and Oie G. 2000. Microbial environments in marine larviculture: impacts of algal growth rates on the bacterial load in six microalgae. *Aquaculture International* 8:275-287.

Sánchez Saavedra M., Licea Navarro, A., y Bernáldez Sarabia, J. 2010. Evaluation of the antibacterial activity of different species of phytoplankton. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 45-3.

Soto Rodriguez S.A., Gomez Gil, B. y Lozano, R. 2010. 'Bright-red syndrome in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* is caused by *Vibrio harveyi*. *Diseases of aquatic organisms*, 92: 11-19.

Tarutani K.K., Nagasaki and Yamaguchi M. 2000. Viral impacts on total abundance and clonal composition of the harmful bloom-forming phytoplankton *Heterosigma akashiwo*. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 4916-4920.

Underwood G.J., Boulcott, M., Raines, C.A. and Waldron, K. 2004. Environmental effects on exopolymer production by marine benthic diatoms: dynamics, changes in composition and pathways of production. *Journal of Phycology* 40:293-304.

Watanabe K., Imase, M., Aoyagi, H., Ohmura, N., Saiki, H. and Tanaka, H. 2008. Development of a novel artificial medium based on utilization of algal photosynthetic metabolites by symbiotic heterotrophs. *Journal of Applied Microbiology* 105:741-751.

Zhang Q.C., Liu, Q., Kang, Z.J., Yu, R.C., Yan, T., y Zhou, M.J. 2015. Development of a fluorescence in situ hybridization (FISH) method for rapid detection of *Ulva prolifera*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 163: 103-111.

TOLERANCIA A LA SALINIDAD EN POBLACIONES SILVESTRES DE CHILE (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) DEL NOROESTE DE MÉXICO
RESISTANCE TO SALINITY IN WILD PEPPER (*Capsicum annuum* L.) FROM NORTHWEST OF MEXICO

José Manuel Osuna Rodríguez¹; Sergio Hernández Verdugo¹; Saúl Parra Terraza¹; Antonio Pacheco Olvera¹; Joel Pineda Pineda².

Posgrado en Ciencias Agropecuarias.¹Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agronomía. manuelmx123@gmail.com. ²Universidad Autónoma Chapingo. Instituto de Horticultura.

RESUMEN

Usando 6 genotipos (Mazocahui, Presa oviachic, Yecorato, Lo de vega, Cosala y Roble) de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), se estableció un experimento con el objetivo de determinar el efecto de tres niveles de NaCl (0, 25 y 50 meq L⁻¹) en 14 características: área foliar, grosor de hoja, SPAD, índice estomático, densidad estomática, estomas por planta, contenido relativo de agua en hoja, altura de planta, diámetro de tallo, peso seco total, peso seco de raíz, peso seco de tallo, peso seco de hojas y masa foliar por área. Esta investigación se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero. Hubo efecto altamente significativo en 13 características en los tratamientos y en las 14 a nivel genotipos de las variables en estudio. Mazocahui y Cosalá resultaron más afectas cuando las plantas se sometieron a 50 meq L⁻¹ de NaCl, mientras que Presa oviachic mostro mas tolerancia a los niveles 25 y 50 meq L⁻¹ de NaCl. Los resultados en este estudio, indican que las poblaciones sometidas a un stress por sales, tienen respuesta diferente entre ellas, lo cual es bueno en la búsqueda de tolerancia al exceso de sales.

Palabras clave: Variación morfológica, sodio, chile chiltepín.

ABSTRACT

Using 6 genotypes (Mazocahui, Presa oviachic, Yecorato, Lo de vega, Cosala and Roble) of wild chile (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*), an experiment was established with the objective of determining the effect of three NaCl levels (0, 25 and 50 meq L⁻¹) in 14 characteristics: leaf area, leaf thickness, SPAD, stomatal index, stomatal density, stomata per plant, relative water content in leaf, plant height, stem diameter, total dry weight, weight root dry, dry weight of stem, dry weight of leaves and foliar mass by area. This research was carried out under greenhouse conditions. There was a highly significant effect in 13 characteristics in the treatments and in the 14 genotypes of the variables under study. Mazocahui and Cosalá were more affected when plants were subjected to 50 meq L⁻¹ of NaCl, while Presa oviachic showed more tolerance at levels 25 and 50 meq L⁻¹ of NaCl. The results in this study indicate that populations subjected to salt stress have a different response among them, which is good in the search for tolerance to excess salts.

Key words: Morphological variation, sodium, chiltepin pepper.

INTRODUCCIÓN

La salinidad se refiere a la concentración de sales solubles en el perfil del suelo y su efecto se refleja en el rendimiento y calidad de los cultivos, aspectos que repercuten en la producción (INEGI, 2015). La situación más frecuente es la salinidad por NaCl (cloruro de sodio).

A nivel mundial la creciente escasez de agua y tierra cultivable para apoyar las necesidades mundiales de alimentos es un problema crítico, ya que gran parte de los alimentos del mundo se producen en tierras de riego, pero alrededor de una décima parte de la superficie irrigada del planeta presenta problemas de sales, lo que se ha convertido en un serio peligro para la seguridad alimentaria (FAO, 2002).

México no es ajeno a este problema, los suelos agrícolas afectados por sales se localizan principalmente en los distritos de riego del norte del país. En la región Noroeste de 2,724,445 ha bajo riego, el 20% corresponden a suelos con problemas de sales. En la Sinaloa de 1,061,233 ha, el 17.1% (18,165 ha) presentan este problema, mientras que en Sonora se reportan 11,854 ha que representa el 13%. Sin embargo, la actividad agrícola en tales ambientes puede ser potencialmente planeada con el establecimientos de cultivos con alta tolerancia al estrés salino (Semarnat, 2002).

Los efectos que el estrés salino causa en las plantas cultivadas, ha sido reportado en trabajos de investigación. Ghazi y Al-Karani (2000), señalan menor tamaño en raíces y parte aérea, así como menor peso seco de éstas; reducción del 60% al 95% en rendimiento (Drew *et al.*, 1990; Chartzoulakis and Klapaki, (2000) y desordenes nutricionales como bajos niveles de K⁺ en hojas y altos de Na⁺ (Ghazi y Al-Karani, 2000). También se modifica el color de las hojas, la tasa de madurez en frutos y el cociente entre la biomasa aérea y la biomasa de la raíz (Casierra-Posada and García, 2005). Por otra parte cuando se ha reportado tolerancia a salinidad en plantas de tomate, se asocia con una baja translocación de Na⁺ y mayor acumulación de K⁺ en hojas (Ghazi y Al-Karani, 2000). Para determinar el impacto de salinidad en las plantas Ziaf *et al.* (2009), sugieren que el contenido relativo de agua en hojas de chile (RLWC, por sus siglas en ingles), el índice de salinidad, así como el índice de área foliar específica, son métodos que ayudaron a concluir que una población de chile criollo de Pakistan "Tata Puri" es relativamente tolerante a la salinidad.

Mientras que los cultivos modernos, son poco tolerantes a las sales, sus parientes silvestres han sido reportadas como tolerantes. Rao *et al.* (2013) realizaron un screening de 94 genotipos silvestres de *Solanum pimpinellifolium* (pariente silvestre más cercano a *Solanum lycopersicum*) y reportan 14 genotipos que sobrevivieron a una concentración de 200 mM de NaCl. En otro estudio, Aktas *et al.* (2006) estudiaron 102 genotipos de *Capsicum annum*, en donde dos de ellos, presentaron tolerancia a 150 mM de NaCl.

El chile (*Capsicum annuum*) es una especie que se cultiva ampliamente en todo el mundo y se considera que fue domesticada en México (Pickergill, 1991). A ella pertenecen los tipos de chiles conocidos como 'Chiltepines', 'Cola de rata', 'Cascabel', 'Cora', 'Guajillo', 'Serrano', 'Anaheim', 'Morrón', entre otros (Hernández-Verdugo, 1999). Esta especie presenta gran variación en tamaño, color y forma de los frutos. La variación genética es algo importante en poblaciones silvestres de *C. annuum*, parientes de las plantas cultivadas. La variabilidad entre poblaciones de *C. annuum* silvestre que se distribuyen ampliamente por todo el territorio nacional, constituyen un importante reservorio de genes que pueden resolver problemas en la agricultura, por ejemplo, proporcionando resistencia a geminivirus (Anaya-López *et al.*, 2003), disponibilidad de luz (Hernández-Verdugo *et al.*, 2015), tolerancia a sales (Aktas *et al.*, 2006).

En condiciones naturales, las poblaciones de *C. annuum* silvestre habitan sitios que difieren en sus niveles de Na⁺ en el suelo. Sin embargo, se desconoce la susceptibilidad o tolerancia de poblaciones de chile silvestre del noroeste de México a niveles elevados de Na⁺.

HIPÓTESIS

Las poblaciones silvestres *Capsicum annuum* L. de México, presentan diferentes niveles de tolerancia a la salinidad.

Objetivo general

Evaluar la respuesta de poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* L. del noroeste de México, en tres niveles de salinidad.

Objetivo particular

Evaluar caracteres morfológicos en chiles silvestres *Capsicum annuum* L. bajo tres niveles de salinidad (NaCl al 0, 25 y 50 meq L⁻¹).

MATERIALES Y MÉTODOS

La especie. *Capsicum annuum* es la especie de chile de mayor importancia económica. Sus parientes silvestres (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickersgill) (Heiser y Pickersgill, 1975) conocidos por el nombre común de "chiltepín", se distribuye desde el sur de Estado Unidos hasta las regiones de baja altitud de Perú y norte de norte de Argentina (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Carrizo *et al.*, 2016). Se localizan fundamentalmente en la selva baja caducifolia, a orillas de caminos, huertos, potreros y bajo la vegetación remanente de los campos de cultivo. Sus plantas son perenes, herbáceas o trepadoras que pueden alcanzar 5 m de altura (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012) y se reproducen sólo por semilla; tienen frutos pequeños, rojos y pungentes que son consumidos y dispersados por las aves (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999). En el noroeste de México, esta especie florece en los meses de julio y agosto, y sus frutos maduran en octubre y noviembre.

Material vegetal y sitios de colecta. Se colectaron frutos maduros de 4 a 20 plantas de seis poblaciones silvestres de Chile durante los meses de octubre y noviembre de 2015. Cada planta en cada población se considera una familia. Los datos geográficos, climáticos y suelo de los sitios de colecta se reportan en el cuadro 1. La concentración de sodio en los sitios de colecta de acuerdo con Qadir y Schubert (2002), no representa problemas para el crecimiento óptimo de las plantas. Sin embargo la precipitación promedio en el sitio Presa Oviachic es la menor respecto a los otros sitios.

Diseño experimental. El diseño fue completamente al azar: Se conformaron tres tratamientos de cloruro de sodio (1-bajo, 0 meq L⁻¹; 2-medio, 25 meq L⁻¹; 3-alto, 50 meq L⁻¹) para seis poblaciones (1-MAZ, 2-POV, 3-YCT, 4-LDV, 5-CSL y 6-ROB) de 4 a 20 familias por población y tres individuos por familia. En total 675 plántulas se establecieron en el experimento. Los tres niveles de NaCl se diseñaron a partir de modificaciones de la solución universal de Steiner (1984), ya que esta solución no incluye Cl⁻ ni Na⁺ en su composición y consistieron en incrementar la concentración de Cl⁻ con relación a NO₃⁻, H₂PO₄⁻, SO₄²⁻, así como la concentración de Na⁺ con relación a K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺. En el Cuadro 3 se presenta la composición química de las soluciones nutritivas, una vez que fueron calculadas y ajustadas de la solución universal de Steiner (1984). El análisis de varianza de las variables consideradas se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 22 (IBM corp, 2013).

Características estimadas. Se realizó un muestreo final. Catorce variables fueron estimadas: (1) área foliar (AF) se midió en cm² con medidor de área foliar Li-Cor 3100C, Nebraska, USA. (2) grosor de hoja (GH) completamente hidratada en μm, con un micrómetro Draper sm-510, Japan. (3) clorofila (CLO) con un SPAD 502 chlorophyll meter konica-minolta. (4) índice estomático (IE). En cada planta se limpió una hoja completamente desarrollada, seleccionada de la parte superior y se obtuvieron impresiones epidérmicas; la técnica consistió en la aplicación de barniz para uñas transparente en un área pequeña (cerca de 2 cm²) de la parte media del envés de la hoja. Después que el barniz se secó por 15 minutos, se colocó diurez para ser removida y montada en un portaobjetos. Con ayuda de un microscopio óptico (zeiss primo star) con un campo de observación de 400X y una cámara Axioncam ICcLi, acoplada a un software Axion Vision Documentation, se capturaron las imágenes digitales. Con el programa ImageJ 1.51j8 se contó el número de estomas y células epidérmicas observadas. Los valores obtenidos se usaron en la siguiente fórmula (Wilkinson, 1979): $(\text{número de estomas} \div [\text{número de estomas} + \text{número de células epidérmicas}]) \times 100$. (5) densidad estomática (DE). Se dividió el número de estomas observados entre el área del campo visual del microscopio (320 x 240 μm²). El valor se multiplicó por 100,000,000 para convertirlo a cm². Finalmente se dividió entre 1,000 para reportarse en 1000/cm². (6) estomas por planta (EP). Multiplicando AF por DE. (7) Contenido relativo de agua en hoja (AH); se calculó siguiendo la siguiente fórmula (Yamasaki y Dillenburg, 1999): $\text{AH} (\%) = [(\text{peso fresco de hojas} - \text{peso seco de hojas}) / \text{hojas frescas completamente túrgidas} - \text{peso seco de hojas}] \times 100$. (8) altura de planta (AP); se midió en cm de la superficie del sustrato hasta la parte más alta del tallo principal. (9) diámetro de tallo (DT); medido en mm a nivel de superficie del sustrato. (10) peso seco total

(PST), (11) peso seco de raíz (PSR), (12) peso seco de tallo (PST) y (13) peso seco de hojas (PSH); se reporta en g, se secaron a 60°-70°C por 72 h en una estufa. (14) masa foliar específica (MFE), en m²·g⁻¹, se dividió el área foliar entre la materia seca de las hojas por planta.

Cuadro 1. Nombre, estado de origen y estatus de cultivo de las poblaciones de *Capsicum. annuum* var. *glabriusculum* en estudio.

	Nombre	Familias	Estado de origen	Estatus de cultivo
1	Mazocahui	4	Sonora	silvestre
2	Presa oviachic	11	Sonora	silvestre
3	Yecorato	17	Sinaloa	silvestre
4	Lo de vega	7	Sinaloa	silvestre
5	Cosalá	16	Sinaloa	silvestre
6	Roble	20	Sinaloa	silvestre

Cuadro 2. Datos geográficos, climáticos y edáficos de seis poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* del noroeste de México.

Población	Latitud N	Longitud -W	T. Max (°C)	T. Min (°C)	T. Min (°C)	PP (m m)	Insolación (W · m ²)	Suelo	CE (dS · m ⁻¹)	pH	Na ⁺	Cl ⁻
Mazocahuí	29°31'	110°05'	44.7	21.3	-4.2	534	368	Arenoso franco	0.7	6.6	1.13	4.0
Presa Oviachicc	27°49'	109°53'	45.2	24.7	-1.5	410	375	Franco arenoso	0.79	7.8	0.91	3.5
Yecorato	26°26'	108°12'	43.9	24.1	-1.0	818	377	Arenoso franco	0.94	6.8	1.4	1.1
Lo de Vega	26°11'	108°36'	42.5	23.6	-1.3	628	378	Franco arenoso	0.82	7.6	0.7	3.2
Cosalá	24°24'	106°36'	41.8	24.9	3.8	1098	383	Franco arenoso	0.91	7.5	0.39	4.0
El Roble	23°55'	106°53'	36.7	23.5	5.0	587	384	Franco	0.52	7.8	0.9	2.5

Cuadro 3. Niveles de salinidad y composición de las soluciones nutritivas.

Niveles de NaCl en meq L ⁻¹	Aniones (meq L ⁻¹)				Cationes (meq L ⁻¹)			
	N-NO ₃ ⁻	P-H ₂ PO ₄ ⁻	S-SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺
0 (bajo)	12	1	6.93	0.9	6.79	7.46	3.56	0.9
25 (medio)	12	1	6.93	25.0	6.79	7.64	3.56	25.0
50 (alto)	12	1	6.93	49.1	6.79	7.46	3.56	49.1

Resultados y discusión

Las características grosor de hoja y masa foliar por área aumentaron significativamente con el aumento de cloruro de sodio en el medio radical (Cuadro 4). La característica índice estomático permaneció estadísticamente igual en los tres tratamientos de cloruro de sodio, sin embargo numéricamente fue menor con forme se incrementaba este. Área foliar, SPAD,

estomas por planta, altura de planta, índice estomáico CRAH, peso seco total, raíz, tallo y hoja, así como diámetro de tallo se redujeron significativamente con forme se incrementaba el sodio (Cuadro 4).

La comparación de medias reveló que las poblaciones se diferenciaron significativamente para todas las características medidas (Cuadro 5). La población Cosalá y Mazocahui mostró los valores más bajos para la mayoría de las características. Estas poblaciones mostraron los valores promedio menores en área foliar, SPAD, estomas por planta, altura de planta, índice estomáico, CRAH, peso seco total, raíz, tallo y hoja así como diámetro de tallo. La población Presa oviachic mostro mas tolerancia cuando se sometió a los mismos niveles de sodio en estas mimas características. Esta variación a los niveles de sodio concuerda con lo reportado Ziaf *et al.* (2009).

Cuadro 4. Medias (± 1 error estándar) para cada característica de seis poblaciones de *Capsicum annuum* silvestre creciendo en solución nutritiva completa conteniendo tres niveles de cloruro de sodio (bajo=0, medio=25 y alto=50 meq L⁻¹ de NaCl). N=225 en cada nivel de cloruro de sodio para todas las características. Letras diferentes en cada fila son significativamente diferente (Duncan; *P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).

Característica	Tratamiento			CV general	F
	Bajo (0 meq L ⁻¹ de NaCl)	Medio (25 meq L ⁻¹ de NaCl)	Alto (50 meq L ⁻¹ de NaCl)		
Área foliar (cm ²)	277a \pm 5.9	229b \pm 4.5	173c \pm 4.7	38.6	104.53** *
Grosor de hoja (mm)	0.208 \pm b 0.002	0.241 \pm a 0.003	0.245 \pm a 0.003	22.8	37.39***
SPAD (Verdor relativo en plantas)	41.8a \pm 0.418	40.3b \pm 0.297	35.1c \pm 0.428	16.4	77.79***
Estomas por planta (10 ⁵)	45.6a \pm 1.64	38.5b \pm 1.12	27.2c \pm 1.06	56.1	48.09***
Densidad estomática (1000/cm ²)	15.9a \pm 0.38 b	16.7a \pm 0.34	15.5b \pm 0.30	32.6	2.42 ^{ns}
Índice estomático (%)	19.9a \pm 0.27	19.8a \pm 0.25	19.3a \pm 0.26	20.1	1.44 ^{ns}
CRAH (contenido relativo de agua en hojas)	4.14a \pm 0.07	3.96a \pm 0.06	3.23b \pm 0.08	32	39.18***
Altura de planta (cm)	46.8a \pm 0.60	44.5b \pm 0.65	44.6b \pm 0.63	20.9	4.22*
Diámetro de tallo (mm)	4.02a \pm 0.03	3.87b \pm 0.03	3.48c \pm 0.03	15.4	61.24***
Peso seco total (g)	2.40a \pm 0.04	1.99b \pm 0.03	1.59c \pm 0.02	34	105.55** *
Peso seco de raíz (g)	0.504 \pm 0.01 a	0.406 \pm 0.00 b	0.278 \pm 0.00 c	42	155.81** *
Peso seco de tallos (g)	1.070 \pm 0.02 a	0.932 \pm 0.02 b	0.808 \pm 0.01 c	39.6	30.38***

Peso seco de hojas (g)	0.826 a ± 0.01	0.651 b ± 0.01	0.506 c ± 0.01	38.4	120.86** *
Masa foliar por área (m ² . g ⁻¹)	30.3b ± 0.44	29.0b ± 0.41	32.2a ± 0.59	24.7	5.70***

Cuadro 5. Medias (\pm error estándar) para las características medidas en seis poblaciones de *Capsicum annuum* silvestre. N= 36, 99, 153, 63, 144 y 180 en las poblaciones Mazocahui, Presa oviachic, Yecorato, Lo de vega, Cosalá y Roble respectivamente. En cada fila, medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes (Duncan; *P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001).

Característica a	Población					
	Mazocahui	Presa oviachic	Yecorato	Lo de vega	Cosalá	Roble
Área foliar (cm ²)	187d \pm 19.1	279a \pm 10.2	236b \pm 5.7	225b \pm 11.9	197cd \pm 6.9	222bc \pm 5.4
Grosor de hoja (mm)	0.27a \pm 0.01	0.22d \pm 0.00	0.22cd \pm 0.01	0.24bc \pm 0.01	0.24b \pm 0.00	0.23bcd \pm 0.00
SPAD	38b \pm 1.10	40a \pm 0.51	41a \pm 0.58	41a \pm 0.75	36c \pm 0.66	40a \pm 0.39
Estomas por planta (10 ⁵)	29.9b \pm 3.6	45.1a \pm 2.3	42.3a \pm 1.6	45.4a \pm 3.0	31.6b \pm 1.8	31.4b \pm 1.0
Densidad estomática (1000/cm ²)	15c \pm 0.60	16c \pm 0.49	18b \pm 0.44	20a \pm 0.81	15cd \pm 0.45	14d \pm 0.26
Índice estomático (%)	19bc \pm 0.6	20ab \pm 0.3	21a \pm 0.3	19c \pm 0.6	19c \pm 0.4	20ab \pm 0.3
CRAH	3.2c \pm 0.2	4.6a \pm 0.1	4.0b \pm 0.1	3.8 b \pm 0.2	3.1c \pm 0.1	3.8b \pm 0.1
Altura de planta (cm)	41b \pm 1.8	46a \pm 0.9	45a \pm 0.7	44a \pm 1.5	46a \pm 0.8	46a \pm 0.7
Diámetro de tallo (mm)	3.67cd \pm 0.11	4.19a \pm 0.05	3.87b \pm 0.04	3.83bc \pm 0.07	3.56d \pm 0.04	3.70bcd \pm 0.04

Peso seco total (g)	1.95dc ±0.18	2.45a ±0.07	2.04bc ±0.05	2.21b ±0.11	1.77d ±0.04	1.81d ±0.04
Peso seco de raíz (g)	0.44b ±0.04	0.50a ±0.02	0.39bcd ±0.01	0.42bc ±0.03	0.37cd ±0.01	0.34d ±0.01
Peso seco de tallos (g)	0.92bcd ±0.10	1.13a ±0.04	0.96bc ±0.03	1.01b ±0.06	0.86cd ±0.02	0.84d ±0.02
Peso seco de hojas (g)	0.60cd ±0.05	0.82a ±0.03	0.68b ±0.01	0.78a ±0.03	0.53d ±0.02	0.63bc ±0.02
Masa foliar por área (g·m ⁻²)	35b ±1.2	30c ±0.6	31c ±0.7	38a ±1.5	29c ±0.6	29c ±0.5

CONCLUSIONES

Los resultados en este estudio, indican que las poblaciones sometidas a un stress por sales, tienen respuesta diferente entre ellas, lo cual es bueno en la búsqueda de resistencia al exceso de sales.

LITERATURA CITADA.

- Aktas H., Abak K. y Cakmak I. (2006) Genotypic variation in the response of pepper to salinity. *Sci. Hort.* 110:260–266.
- Alcántar G. G. y Sandoval V. M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación Especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Chapingo, México. 156 p.
- Anaya-López J. L., Torres-Pacheco I., González-Chavira M., Garzón-Tiznado J. A., Pons-Hernandez J. L., Guevara-Gonzalez R. G. y Hernandez-Verdugo S. 2003. Resistance to geminivirus mixed infections in Mexican wild peppers. *HortScience*, 38(2), 251-255.
- Bremner J. M. 1965. Total nitrogen. *In*: Black, C. A. (ed.). *Methods of soil analysis. (Part 2). (Agronomy 9)*. American Society of Agronomy. Madison, WI. USA. pp:1149-1178.
- Carrizo G. C., Barfuss M.H.J., Sehr E.M, Barboza G.E, Samuel R, Moscone E.A y Ehrendorfer F. 2016. Phylogenetic relationships, diversitification and expansion of chilli peppers (*Capsicum*, Solanaceae). *Annals of Botany* 118: 35-51.
- Casierra-Posada F. y García N., 2005. Crecimiento y distribución de materia seca en cultivares de fresa (*Fragaria sp.*) bajo estrés salino. *Agronomía Colombiana* 23(1), 83-89.

Chartzoulakis K. y Klapaki G. 2000. Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Sci. Hort.* 86: 247-260.

Chavira R. J. C. y Castellanos R. J. Z. 1987. Sales solubles. *In: Aguilar, S. A.; Etchevers, J. D. y Castellanos, R. J. Z. (eds.). Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo. Publicación Especial Núm. 1. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. p:109-124.*

Drew M.C., Hole P.S. y Picchioni G.A.. 1990. Inhibition by NaCl of net CO₂ fixation and yield of cucumber. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 115: 472-477.

FAO. 2002. Land and Plant Nutrition Management Service. www.fao.org (Consulta, julio 2015).

Ghazi N. y Al-Karaki 2000. Growth, water use efficiency, and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* Vol. 23, Iss. 1.

Hernández-Verdugo S., Dávila P. y Oyama K., 1999. "Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*". *Bol. Soc. Bot. Méx.*, 64: 65- 84.

Hernández-Verdugo S., Dávila-Aranda A.P. y Oyama K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64:65-84.

Hernández-Verdugo S., González-Sánchez R. A., Porras F., Parra-Terraza, S. Valdez-Ortiz, A. Pacheco-Olvera A., y López-España, R. G. 2015. Plasticidad fenotípica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en respuesta a disponibilidad de luz. *Botanical Sciences*, 93(2).

Hernández-Verdugo S., Porras F., Pacheco-Olvera A., López-España R.G., Villarreal-Romero M., Parra-Terraza S. y Osuna E.T. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Polibotánica* 33: 175-191.

IBM Corp. 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp., Armonk, NY.

IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.

INEGI. 2015. Salinización de suelos en México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México DF. www.inegi.org.mx (Consulta, julio 2015).

Pickersgill B.1991. "Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L". En: Tsuchiya T. y Gupta P.K. (Edrs.) *Chromosome engineering in plants: Genetics, breeding, evolution*. Part B. Elsevier. Amsterdam. pp: 139-160.

Qadir, Manzoor y Schubert, S. 2002. Degradation Processes and Nutrient Constraints in Sodic Soils. *Land Degradation & Development*. 13. 275 - 294. [10.1002/ldr.504](https://doi.org/10.1002/ldr.504).

Rao E.S., Kadirvel P., Symonds R.C. y Ebert A.W. 2013. Relationship between survival and yield related traits in *Solanum pimpinellifolium* under salt stress. *Euphytica* 190:215–228

Rodríguez H. y Rodríguez J. 2002. Métodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación. Editorial Trillas, S. A. de C. V. D. F., México. pp: 155-157.

Semarnat, 2002. Salinización de suelos en México. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. www.gob.mx/semarnat (Consulta, julio 2015).

Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. Sixth Int. Congr. on Soilless Culture. pp. 633-649. *In*: proceeding 6th International Congress on Soilless Culture. Wageningen, The Netherlands.

Ziaf K., Amjad M., Pervez M.A., Iqbal Q., Rajwana I.A. y Ayub M., 2009. Evaluation of different growth and physiological traits as indices of salt tolerance in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Pakistan J. Bot.*, 41: 1797–1809.

DETECCIÓN MOLECULAR POR LAMP Y PCR ANIDADA DE *M. gallisepticum* Y *M. synoviae* EN AVES DE POSTURA COMERCIAL EN MEXICO

Miguel Ángel Cháidez Ibarra, Soila Maribel Gaxiola Camacho, Idalia Enríquez Verdugo, Nohemí Castro del Campo, Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

Doctorado en Ciencias Agropecuarias
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, mig_cha@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas son los principales agentes causantes de enfermedades respiratorias en aves domésticas, incluyendo algunas aves silvestres y causan grandes pérdidas económicas en el mundo (Umar *et al.*, 2017). *Mycoplasma gallisepticum* es la especie patógena más importante de los micoplasmas aviáres y causa enfermedades respiratorias crónicas en aves. Además, la prevalencia de *Mycoplasma synoviae* es una preocupación creciente en varios estados miembros de la Unión Europea (Michiels *et al.*, 2016). En comparación con los estándares para la estirpe de aves y otra parvada en la misma granja, la producción total de huevos a 60 semanas de edad en una parvada de reproductores pesados infectados con *M. synoviae* fue un 9% inferior, la incubabilidad un 4% inferior y la producción total de pollos fue un 15% inferior. La tasa de mortalidad total en la parvada fue del 15% (Moreira, Cardoso y Coelho, 2014).

Los micoplasmas (nombre trivial asignado a la clase *Mollicutes*, incluidos micoplasmas, acholeoplasmas y espiroplasmas) son bacterias simples que se caracterizan por la falta de una pared celular bacteriana y poseen genomas muy pequeños (580 kb-2200 kb) (Mbelo *et al.*, 2018). Los genomas completos de las tres cepas (MS-H, WVU-1853 y MS53) tienen longitudes promedio similares de genes, con un rango de 992 a 1002 pb, densidades de genes promedio de aproximadamente el 90% y números de proteínas presuntivamente codificadas, con un rango de 723 a 764, de las cuales 541 a 573 tienen funciones predichas. Las cepas tienen en común la mayoría de sus genes o productos genéticos, compartiendo 92.5% - 100% de identidades de secuencia de nucleótidos y 88.0% - 100% de identidades de secuencia de aminoácidos (Zhu *et al.*, 2018).

El control de *M. gallisepticum* requiere identificar rápidamente las fuentes de infección y permitir la contención antes de su posterior diseminación (Kleven, 2008). El diagnóstico rápido de *M. gallisepticum* es necesario para su control efectivo (Ehtisham-ul-Haque *et al.*, 2017). Es muy necesario un método rápido para detectar *M. synoviae* de manera sensible y específica para ayudar al diagnóstico y la monitorización de la infección en el campo (Landman, 2014).

Se necesitan más estudios para establecer la presencia de estos agentes patógenos en otras parvadas en el área local y en toda la región (Hutton *et al.*, 2017). Todavía se necesita una herramienta de detección sensible, específica y fácil de usar para la detección rápida de *M. synoviae* en el campo para facilitar el diagnóstico oportuno y el monitoreo de la infección (Kuo *et al.*, 2017). Aún existe la necesidad de mejorar la sensibilidad, especificidad,

reproducibilidad, facilidad de uso, entrega al usuario final y asequibilidad de los ensayos LAMP (Ehtisham-UI-Haque *et al.*, 2018).

En Etiopía, por PCR se identificó *M. gallisepticum* en dos grupos de aves progenitores ligeros (16.7%) y *M. synoviae* fue identificada en 11 de los 12 grupos (91.7%) (Hutton *et al.*, 2017). En Pakistán, 40.32% de las aves (pollos y gallinas) con signos respiratorios resultaron positivos para MG y 13.70% fueron positivos para MS (Khatoon *et al.*, 2018). En Bélgica, se encontró una baja prevalencia estimada de *M. gallisepticum* entre y dentro de granjas de postura (0.9%) y de pollos (2.7%). Ninguna de las muestras de pavos o palomas mensajeras resultó positiva. En aves silvestres, se encontraron 1.7% de aves positivas. Para *M. synoviae* se encontró una alta prevalencia en pollos (12.9%). En muestras recogidas por cazadores dieron un resultado positivo para *M. synoviae* 4%. Además, se encontró un 3% de gorriones domésticos positivos (Michiels *et al.*, 2016). En Brasil, se identificó alta prevalencia de micoplasma en granjas comerciales, con predominio de *M. synoviae* (32.4%), principalmente en gallinas ponedoras y reproductores con problemas respiratorios, en cambio *M. gallisepticum* se detectó sólo en 2.0% de los casos (Buim *et al.*, 2009).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las herramientas de diagnóstico convencionales (serología y cultivo) son insuficientes para monitorear eficazmente las infecciones en aves (Ehtisham-UI-Haque *et al.*, 2018). Se puede esperar un cierto nivel de resultados falsos positivos en casi cualquier prueba serológica (Feberwee *et al.*, 2005). Las técnicas de cultivo son laboriosas, lentas, costosas y requieren condiciones estériles (Ferguson-Noel y Williams, 2015).

La PCR específica para MG y MS del gen 16S ARNr es superior al aislamiento por cultivo para la detección crucial, rápida, específica y sensible de micoplasmosis de aves directamente en muestras clínicas (Kamble *et al.*, 2015).

En México aún no existen reportes de detección por medio de PCR. Los resultados por serología en gallos de pelea reflejan 78% para *M. gallisepticum* y 91% para *M. synoviae* (Talavera-Rojas *et al.*, 2012), 72.2% para *M. gallisepticum* y 22.2% para *M. synoviae* en guajolotes de traspatio (Camacho-Escobar *et al.*, 2009) y 0% para ambas especies en aves silvestres (Aguirre *et al.*, 1992). Por lo que se sabe, la literatura científica no contiene informes sobre la identificación molecular de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* en México; por lo tanto, los genotipos circulantes son completamente desconocidos.

HIPÓTESIS

La técnica molecular alternativa a PCR anidado [amplificación isotérmica mediada por circuito en tiempo real (LAMP) con el sistema de extracción automática de ácidos nucleicos (mini dispositivo desplegable en el campo taco TM con el analizador portátil de ácidos nucleicos POKKITM)] identificará con similar sensibilidad y especificidad *M. gallisepticum* y *M. synoviae* en hembras de postura comercial (de estirpe, edad o estado de salud indistinto).

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este trabajo será comparar la sensibilidad y especificidad de la amplificación isotérmica mediada por circuito en tiempo real (LAMP) frente a PCR anidado dirigido al gen 16S ARNr de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* para demostrar la presencia de ambos patógenos en Sinaloa y Sonora mediante técnicas moleculares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar la técnica molecular alternativa amplificación isotérmica mediada por circuito en tiempo real (LAMP) con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) anidada dirigida al gen 16S ARNr especie específico.

Confirmar la infección por micoplasma en tráquea de aves de postura comercial en los estados de Sinaloa y Sonora, México.

Diferenciar *M. gallisepticum* y *M. synoviae* de aves de postura sospechosas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Serán colectadas un total de 60 muestras de campo (tráquea) de diferentes granjas avícolas de postura comerciales sospechosas de micoplasmosis aviar. Las muestras traqueales (n = 14) obtenidas de aves vacunadas para ambos micoplasmas también serán procesadas como control positivo.

Desde mayo de 2019 hasta abril de 2020, serán tomadas muestras al azar de un total de 60 muestras traqueales de gallinas de diferentes granjas avícolas en los estados de Sinaloa y Sonora, México. Estas muestras clínicas serán utilizadas para validar la aplicabilidad del ensayo LAMP en condiciones de campo. Las extracciones de ADN serán realizadas como se describe en los párrafos posteriores y serán analizadas utilizando los ensayos de PCR y LAMP.

PCR anidada.

Los cebadores generales y específicos de la especie serán diseñados a partir del gen 16s a partir de secuencias de ARN ribosomal para *M. gallisepticum* y *M. synoviae* de 16s. Para la confirmación de especificidad, las secuencias serán BLAST contra la base de datos NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>). Para calidad, las secuencias seleccionada como cebadores serán analizadas mediante la herramienta Fast PCR (GC%, complejidad lingüística, eficacia del cebador PCR, autodimerización, estructura de horquilla). Los cebadores seleccionados serán sintetizados a partir de la tecnología de ADN integrado (IDT), EUA (Muhammad *et al.*, 2017).

Determinación de sensibilidad. Será tomado un mililitro de cada dilución de la muestra original y será centrifugado a 12000 x g durante 5 minutos y los sedimentos serán suspendidos en 20 µl de agua desionizada estéril. Las suspensiones serán transferidas a un tubo de pared delgada y serán calentados a 100°C durante 10 minutos en un bloque de calefacción; serán utilizados 2 µl de este lisado celular como plantilla en la PCR.

Preparación de ADN en bruto. Para extracción de ADN para la evaluación de su eficiencia y rapidez a partir de 200 µl de muestra, será diluida a 1:5 o 1:10 en agua libre de nucleasas y será calentado en un bloque de calentamiento a 100°C durante 10 minutos, luego será centrifugado durante 3 minutos a 12000 x g, se usará el sobrenadante como plantilla.

Amplificación isotérmica mediada por circuito (LAMP)

En el presente estudio, se desarrollará un método LAMP dirigido al gen 16S ARNr para detectar *M. gallisepticum* y *M. synoviae* y luego será aplicado a muestras clínicas y comparado con PCR anidado. El gen 16S ARNr será seleccionado como objetivo porque es un gen altamente conservado, basado en un análisis de las secuencias en GenBank y es útil para la identificación de micoplasma, hasta el nivel de especie.

El ADN genómico de cada muestra será almacenado a -70 ° C para ser utilizado como plantilla para los posteriores análisis de LAMP y PCR.

Los cebadores LAMP consistirán en 2 cebadores externos (cebador directo F3 y cebador inverso B3) y 2 cebadores internos (cebador interno directo FIP y cebador interno inverso BIP), serán diseñados con Primer Explorer V4 (<http://primerexplorer.jp/elamp4.0.0/index.html>). Todos los cebadores utilizados en este estudio serán analizados con BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) para determinar su especificidad y luego serán sintetizados comercialmente.

La mezcla de reacción contendrá 2.5 µL de 10 × amortiguador de reacción LAMP, 1.6 mM de cada dNTP, 0.8 M de betaína, 8 mM MgSO₄, 0.5 µL de fragmento grande ADN polimerasa Bst, 30 pmol de cada uno de los cebadores internos FIP y BIP, 5 pmol cada uno de los cebadores externos F3 y B3 y 1 µL de plantilla objetivo. La mezcla será incubada a 65 ° C durante 30 minutos usando un baño de agua y luego será calentada a 80 ° C durante 10 minutos para inactivar la ADN polimerasa Bst.

El método de PCR anidado será comparado, en términos de sensibilidad y especificidad, con el ensayo LAMP. Cuando se requiera, los productos de la PCR serán purificados con un kit de purificación comercial y se enviarán a secuenciación.

Para evaluar la sensibilidad y especificidad de LAMP, el ADN genómico de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* será diluido en serie 10 veces desde 1 × 10⁸ fg hasta 0.01 fg ADN / µL. El límite de detección del ensayo LAMP será comparado con el de la PCR utilizando el mismo ADN_g diluido como plantilla por triplicado. Los ensayos de LAMP serán realizados utilizando las condiciones de reacción óptimas descritas anteriormente.

Cada hisopo será colocado en un tubo de microcentrifuga de 1.5 ml que contendrá 400 µL de PBS estéril y será agitado en vórtex durante 2 min. El gDNA de estas muestras será extraído luego con un kit comercial, siguiendo el protocolo del fabricante. La PCR y la LAMP serán utilizadas para probar la presencia de *M. gallisepticum* y *M. synoviae*. Cada muestra será analizada por triplicado. Para confirmar la reproducibilidad del ensayo LAMP, serán analizados mediante el ensayo LAMP los extractos de ADN_g de 14 hisopos traqueales de gallinas vacunadas con ts11 y MS-H. Para cada prueba, será incluido 1 control negativo sin plantilla de ADN (Zhang *et al.*, 2015).

Análisis estadístico. La significancia estadística será calculada utilizando la prueba de chi cuadrada. Un valor de $P < 0.05$ será considerado estadísticamente significativo.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, A Alonso, Mclean, Robert G, Cook, Robert S and Quan, Thomas J. 1992. Serologic survey for selected arboviruses and other potential pathogens in wildlife from Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* 28, (3): 435-442. 0090-3558; <https://www.jwildlifedis.org/doi/pdf/10.7589/0090-3558-28.3.435>
- Buim, M. R., Mettifogo, E., Timenetsky, J., Kleven, S. and Ferreira, A. J. P. 2009. Epidemiological survey on *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* by multiplex PCR in commercial poultry. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 29, (7): 552-556. ISSN: 0100-736X; DOI: 10.1590/s0100-736x2009000700009;
- Camacho-Escobar, Marco Antonio, Elizabeth, Pã, Arroyo-Ledezma, Jaime and Ivã, Edgar. 2009. Backyard turkeys as diseases reservoir for wild birds and poultry in three ecosystems of the Mexican coast. *Tropical and subtropical agroecosystems* 10, (1): 109-115. 1870-0462;
- Feberwee, A., Mekkes, D. R., De Wit, J. J., Hartman, E. G. and Pijpers, A. 2005. Comparison of culture, PCR, and different serologic tests for detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infections. *Avian Diseases* 49, (2): 260-268. ISSN: 0005-2086; DOI: 10.1637/7274-090804r
- Ehtisham-Ul-Haque, S., Kiran, M., Waheed, U. and Younus, M. 2017. Real-time loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of *mgc2* gene of *Mycoplasma gallisepticum*. *Journal of Veterinary Research* 61, (4): 439-444. ISSN: 2450-7393; DOI: 10.1515/jvetres-2017-0058
- Ehtisham-Ul-Haque, S., Zaman, M. A., Kiran, M., Rafique, M. K., Qamar, M. F. and Younus, M. 2018. Current loop-mediated isothermal amplification (LAMP) technologies for the detection of poultry pathogens. *Worlds Poultry Science Journal* 74, (2): 287-300. ISSN: 0043-9339; DOI: 10.1017/s004393391700109x
- Ferguson-Noel, N. M. and Williams, S. M. 2015. The efficacy of *Mycoplasma gallisepticum* K-strain live vaccine in broiler and layer chickens. *Avian Pathology* 44, (2): 75-80. ISSN: 0307-9457; DOI: 10.1080/03079457.2015.1005054
- Hutton, S., Bettridge, J., Christley, R., Habte, T. and Ganapathy, K. 2017. Detection of infectious bronchitis virus 793B, avian metapneumovirus, *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in poultry in Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production* 49, (2): 317-322. ISSN: 0049-4747; DOI: 10.1007/s11250-016-1195-2
- Kamble, S. Y., Gandge, R. S. and Majee, S. B. 2015. Diagnosis of poultry mycoplasmosis by cultural isolation and PCR. *Indian Journal of Animal Sciences* 85, (10): 13-16. ISSN: 0367-8318; <Go to ISI>://WOS:000363436900003
- Khatoon, H, Afzal, F, Tahir, Mf, Hussain, M and Khan, Su. 2018. Prevalence of Mycoplasmosis and Antibiotic Susceptibility of *Mycoplasma gallisepticum* in Commercial Chicken Flocks of Rawalpindi Division, Pakistan. 1-3. DOI: 10.29261/pakvetj/2018.081;
- Kleven, S. H. 2008. Control of avian *Mycoplasma* infections in commercial poultry. *Avian Diseases* 52, (3): 367-374. ISSN: 0005-2086; DOI: 10.1637/8323-041808-Review.1

- Kuo, H. C., Lo, D. Y., Chen, C. L., Tsai, Y. L., Ping, J. F., Lee, C. H., Lee, P. Y. A. and Chang, H. F. G. 2017. Rapid and sensitive detection of *Mycoplasma synoviae* by an insulated isothermal polymerase chain reaction-based assay on a field-deployable device. *Poultry Science* 96, (1): 35-41. ISSN: 0032-5791; DOI: 10.3382/ps/pew228;
- Landman, W. J. M. 2014. Is *Mycoplasma synoviae* outrunning *Mycoplasma gallisepticum*? A viewpoint from the Netherlands. *Avian Pathology* 43, (1): 2-8. ISSN: 0307-9457; DOI: 10.1080/03079457.2014.881049
- Mbelo, S., Gay, V., Blanchard, S., Abachin, E., Falque, S., Lechenet, J., Poulet, H. and De Saint-Vis, B. 2018. Development of a highly sensitive PCR/DNA chip method to detect mycoplasmas in a veterinary modified live vaccine. *Biologicals* 54, 22-27. ISSN: 1045-1056; DOI: 10.1016/j.biologicals.2018.05.002
- Michiels, T., Welby, S., Vanrobaeys, M., Quinet, C., Rouffaer, L., Lens, L., Martel, A. and Butaye, P. 2016. Prevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in commercial poultry, racing pigeons and wild birds in Belgium. *Avian Pathology* 45, (2): 244-252. ISSN: 0307-9457; DOI: 10.1080/03079457.2016.1145354
- Moreira, F. A., Cardoso, L. and Coelho, A. C. 2014. Decreased production in broiler breeders due to tendon rupture by *Mycoplasma synoviae*. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 65, (2): 109-114. 1792-2720; <Go to ISI>://WOS:000339604000005
- Muhammad, F., Fareed, S. K., Zafar, U., Khan, T. A. and Ahmad, A. 2017. Development and Evaluation of Culture-Enhanced Tetra-PCR for Differential Diagnosis of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae*. *Pakistan Journal of Zoology* 49, (6): 2133-2140. ISSN: 0030-9923; DOI: 10.17582/journal.pjz/2017.49.6.2133.2140
- Talavera Rojas, Martín, Vázquez Vera, Celedonio, Fernández Rosas, Pomposo, Peña Romero, Agustín Horacio, Soriano Vargas, Edgardo and Talavera Gonzalez, Juan Martin. 2012. Sero-prevalencia de *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* en aves de combate del altiplano central en México. *Revista Científica* 22, (2): 135-139. ISSN: 0798-2259;
- Umar, S., Munir, M. T., Ur-Rehman, Z., Subhan, S., Azam, T. and Shah, M. A. A. 2017. Mycoplasmosis in poultry: update on diagnosis and preventive measures. *Worlds Poultry Science Journal* 73, (1): 17-28. ISSN: 0043-9339; DOI: 10.1017/s0043933916000830
- Zhang, F. Q., Bao, S. J., Yu, S. Q., Cheng, J. H., Tan, L., Qiu, X. S., Song, C. P., Dai, Y. B., Fei, R. M. and Ding, C. 2015. Development of a loop-mediated isothermal amplification targeting a gene within the pyruvate dehydrogenase complex, the *pdhA* gene, for rapid detection of *Mycoplasma gallisepticum*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27, (3): 260-267. ISSN: 1040-6387; DOI: 10.1177/1040638715584155
- Zhu, L., Shahid, M. A., Markham, J., Browning, G. F., Noormohammadi, A. H. and Marends, M. S. 2018. Genome analysis of *Mycoplasma synoviae* strain MS-H, the most common *M. synoviae* strain with a worldwide distribution. *Bmc Genomics* 19, 1-13. ISSN: 1471-2164; DOI: 10.1186/s12864-018-4501-8

TALLAS Y FECUNDIDAD DEL CANGREJO ROCA *Grapsus grapsus* EN ISLAS DE BAHÍA NAVACHISTE, SINALOA, MÉXICO

Yecenia Gutiérrez Rubio¹, Juan Francisco Arzola González^{1,2}, Jorge Saúl Ramírez Pérez^{1,2}, Raúl Pérez González^{1,2} Andrés Martín Góngora Martínez³, Guillermo Rodríguez Domínguez^{1,2}, María Candelaria Valdez Pineda², Jesús Manuel Díaz Gaxiola⁴, Rebeca Sánchez Cárdenas², Luis Antonio Salcido Guevara²

¹Doctorado en Ciencias en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. A.P. 610. Mazatlán, Sinaloa, México.

²Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. A.P. 610. Mazatlán, Sinaloa, México. yeceniagutierrez@uas.edu.mx. ³Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigaciones para el Desarrollo Integral Regional -Unidad Sinaloa-. Departamento de Acuacultura. CP. 81101. Blvd. Juan de Dios Batiz No. 250, Col. San Juachin, Guasave, Sinaloa, México. ⁴Tecnológico Nacional de México, Laboratorio de Ecología, Blvd. Juan de Dios Batiz s/n, Los Mochis, Sinaloa, México.

INTRODUCCIÓN

La costa de Sinaloa y sus recursos naturales han sido insuficientemente estudiados (Flores-Campaña et al., 2003). En esta región se localizan un poco más de 400 islas, las cuales se clasifican en farallones, cayos, barras, puntas, arrecifes, rocas, islas, e islotes y representan casi el 45 % de los cuerpos insulares que se encuentran dentro del Golfo de California (Flores-Campaña et al., 2003). Por su ubicación, las islas de Sinaloa se consideran continentales, por su cercanía con la zona costera o dentro de cuerpos costeros semi-encerrados de bahías como: Topolobampo, Navachiste, Santa María, Altata-Ensenada del Pabellón y Mazatlán (Anónimo, 1988).

Asimismo, es poco conocido que las islas de Sinaloa forman parte de un área natural protegida que actualmente se identifica como Área de Protección de Flora y Fauna Islas del Golfo de California (DOF 07/06/2000). Por ello, es necesario un adecuado conocimiento de las comunidades que habitan en estos ambientes, principalmente en aquellos donde las actividades antropogénicas no han generado modificaciones importantes en su composición (Flores-Campaña et al., 2007). Sin embargo, en estos ecosistemas insulares por su accesibilidad y fácil captura, destacan algunas especies de crustáceos que se pueden recolectar en aguas someras o en la franja intermareal.

Una de estas especies es el cangrejo roca *Grapsus grapsus* (Linnaeus, 1758), que es utilizado localmente como complemento para la alimentación familiar (Arzola-González y Flores-Campaña, 2008) y como carnada para la pesca de escama durante todo el año (Arzola-González et al., 2010; Gutiérrez-Rubio et al., 2018). *G. grapsus* es una de las especies intermareales más comunes en las islas de bahía Navachiste, Sinaloa. Esta especie, perteneciente a la familia Grapsidae, se distribuye en el Pacífico Oriental desde Isla Cedros, en la costa oeste de Baja California, las Rocas Alijos y las islas Revillagigedo, México hasta la bahía Talcahuano, Chile; incluyendo las islas Galápagos, Clipperton, Malpelo y Juan Fernández (Hendrickx et al., 2005). En el Océano Atlántico Ecuatorial, se distribuye en las islas San Pedro y San Paul (Freire et al., 2010).

La estimación de la fecundidad en poblaciones pesqueras con un potencial de extracción, reviste un interés especial en función de la relación entre el potencial reproductivo de la especie con la capacidad de renovación de las poblaciones; además, representa un aspecto básico en el conocimiento biológico de la estrategia reproductiva y la evolución de la población.

La fecundidad consiste en la capacidad potencial reproductiva de una hembra adulta, es decir, al número de huevos producidos por desove, además, está muy relacionada con las capacidades de supervivencia poblacional (Bagenal, 1978; Escamilla-Montes *et al.*, 2013). La fecundidad es un parámetro importante en crustáceos para la estimación de la capacidad reproductiva y la talla de “futuro reclutamiento” de las diferentes especies o poblaciones de crustáceos (Hattori y Pinheiro, 2001).

La mayoría de los trabajos realizados sobre esta especie, tratan aspectos taxonómicos y de distribución (Hendrickx *et al.*, 2005, Arzola González *et al.*, 2010). En la actualidad, Bárcenas-Gutiérrez y Jáuregui-Velázquez (2017) analizaron el comportamiento social y reproductivo de *G. grapsus* en el intermareal de Puerto Vallarta, Jalisco. Sin embargo, prácticamente no existen estudios sobre caracteres morfométricos de *G. grapsus* en esta zona (Gutiérrez-Rubio, 2015) y de fecundidad (Teschima *et al.*, 2007), por lo que estos trabajos son básicos para una evaluación pesquera de este recurso, sobretodo, por su accesible vulnerabilidad y fácil captura sin que exista una regulación de su extracción, situación muy distinta a la observada en otros crustáceos decápodos, donde se han analizado diversos aspectos biológicos pesqueros, como langostas (*Panulirus* spp) y cangrejos jaibas *Callinectes* spp (Arzola-González., 2011; Rodríguez-Domínguez *et al.*, 2012) en la costa de Sinaloa.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, como resultado del incremento poblacional desmedido en las zonas aledañas a los cuerpos de agua, cada vez se incrementa la demanda de recursos alimenticios de origen acuático. Las capturas de moluscos (almejas, ostiones y mejillones), crustáceos (camarones y langostas) y peces, entre otros, no han sido suficientes, de tal forma que se ha tenido que recurrir a la utilización de otras especies acuáticas que no eran consideradas como atractivas para su consumo.

Como una alternativa, algunos pescadores de la región capturan de forma constante y sin control, al cangrejo de roca (*Grapsus grapsus*), el cual se caracteriza por ser un organismo de tallas pequeñas y que es utilizado como alimento, o como carnada para la pesca de escama (palometa, botete, pargo, etc.).

HIPOTESIS

Existen diferencias en sus tallas y fecundidad del cangrejo roca *Grapsus grapsus* entre las islas de la Bahía Navachiste, Sinaloa, México.

OBJETIVOS

Objetivo general

Aportar información sobre aspectos biológicos-pesqueros como las tallas y fecundidad *G. grapsus* en la zona intermareal algunas islas de la Bahía Navachiste, Sinaloa, México.

Objetivos particulares

Describir las tallas de *G. grapsus*.

Analizar las relaciones biométricas entre la longitud y el peso de los organismos.

Determinar la fecundidad en las hembras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Colecta de organismos

El área de estudio se compone por un sistema de islas; Guasayeye, La Ventana y San Lucas, las cuales se ubican sobre la zona costera del sureste del golfo de California, entre los 25° 22' y 25° 35' LN y los 108° 42' y 108° 56' LO, frente a la bahía Navachiste, Sinaloa, México.

Se realizó una expedición de reconocimientos con carácter prospectivo en el área de estudio con la finalidad de identificar las condiciones de arribo a las islas, características topográficas, tiempo de exposición y área del litoral durante la oscilación de la marea. De esta manera, se establecieron las estrategias de recolecta como cada estación de muestreo por isla, ubicación preferentemente similar en el tipo sustrato rocoso, además se realizaron observaciones generales de cada isla. Se realizaron muestreos bimestrales durante noviembre de 2017 a septiembre de 2018. La isla Guasayeye presenta la mayor playa rocosa. La isla La Ventana se caracteriza por playa angosta y de difícil acceso por el tamaño de las rocas. La isla San Lucas tiene dos zonas rocosas y entre medio playa arenosa con rocas pequeñas y zona de manglar. (Ortiz-Arellano y Flores-Campaña, 2008).

Los muestreos fueron nocturnos y durante las mareas de sicigia y en la fase de bajamar, de acuerdo a Freire et al. (2010) se utilizó un transecto de 2X20 m paralelo a la línea de costa y con el límite inferior en la bajamar de cada estación. Se recolectaron los organismos de *G. grapsus* y se depositaron en bolsas de plástico con agua de mar y hielo para luego ser transportados al laboratorio en una hielera. Posteriormente se realizó la diferenciación sexual considerando el dimorfismo entre los organismos, a través de la forma de la región abdominal ancha en hembras y estrecha en machos, además de la presencia de pleópodos birrámeos (apéndices del abdomen) en hembras y solamente un par de pleópodos unirrámeos en machos.

Mediciones morfométricas

A los cangrejos se les mido la anchura (AN), longitud (L) y altura (AL) con un vernier digital (0.01 mm) y su respectivo peso fresco (PT) por medio de una balanza digital (0.1 g de sensibilidad). La forma de crecimiento se verificó con la relación que describe la relación entre la longitud del cefalotórax y peso, asimismo, entre las longitudes. Además, se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) entre las relaciones morfométricas mencionadas, mediante las siguientes ecuaciones:

$y=a+bx$, $y=ax^b$, (Ricker, 1975)

Donde:

y= corresponde a AN, L o PT.

a= ordenada al origen.

b= pendiente.

X= es la L, AN o PT.

Se aplicó la prueba de *t* al valor del exponente (b) de la ecuación obtenida de la relación biométrica entre L-PT, una vez transformados los valores en logaritmos, y bajo el supuesto de que si “b” es igual a tres, los organismos de *G. grapsus* crecen en proporción o isométricamente.

Fecundidad

La estimación de la fecundidad se realizó por el método gravimétrico (Bagenal et al., 1978; Escamilla-Montes et al., 2013) y se utilizaron hembras grávidas, una vez registradas las mediciones y peso correspondiente de cada ejemplar, se procedió a la extracción de la masa ovígera a través de la disección de los endopóditos de los pleópodos. Por cada hembra los huevos se depositaron en cajas de aluminio previamente pesadas y se obtuvo el peso fresco de la masa ovígera (PFMO). Después, las huevas por charola se colocaron en un horno a 50 °C por 30 m, durante ese tiempo se procuró homogeneizar cada hueva para obtener un secado completo de los huevos y así estimar el peso seco de la hueva (PSMO).

Por cada hueva, se obtuvieron al azar tres muestras de 0.001 g y se colocaron en cajas de Petri y con un microscopio estereoscópico se contabilizaron todos los huevos, posteriormente se sumaron las tres muestras y se obtuvo el promedio de huevos por cada hembra, finalmente, se extrapoló esta media con respecto al peso seco de la hueva, obteniendo así la estimación total de huevos (fecundidad) por cada hembra grávida de *G. grapsus*.

Análisis estadísticos

A los datos de AN y PT se realizaron pruebas de normalidad (prueba Kolmogorov-Sminorv) y homoscedasticidad (prueba Bartlet), posteriormente se realizó la prueba de Kruskal-Wallis por rangos. Por sexos, para estimar la diferencia entre las tallas de anchura y peso, se realizó la prueba *t*-Student. Esta misma prueba fue utilizada para estimar el valor de la pendiente (b) de la relación biométrica de L-PT. En todos los casos, se utilizó un nivel de significancia de (α) 0.05 (Zar, 2009) y el ajuste de medias se calculó con el paquete Statistica, V7.0 (StaSoft, 2004).

RESULTADOS

En total se analizaron 198 organismos, 106 fueron hembras (53.3 %) y 92 machos (46.7 %), con una proporción sexual H:M de 1.15:1. Por isla, el mayor porcentaje de captura fue San Lucas (41.4 %) y el menor La Ventana (27.7 %). En la tabla 1, se indica que la población de *G. grapsus* la máxima anchura fue 69.3 mm y el peso 137.5 g (San Lucas), mientras la menor talla en ancho de 9.3 mm y en peso de 0.5 g (Guasayeye).

Tabla 1. Máximo, mínimo, moda, media y desviación estándar (D.E.) de anchura (AN), longitud (L) y altura (AL) mm y peso (PT) g de *Grapsus grapsus* en las islas de bahía Navachiste.

	AN	L	AL	PT
Máximo	69.3	61.1	35.4	137.5
Mínimo	9.3	8.4	3.9	0.5
Moda	15.0	12.3	6.2	0.9
Media	18.0	14.6	8.1	4.9
D.E. \pm	8.4	7.4	4.6	13.8

Por sexos en el cangrejo roca no se encontraron diferencias significativas en AN y PT entre machos y hembras (prueba *t*-Student, $P < 0.05$). Entre las islas, al comparar las tallas de AN de *G. grapsus* no registraron una distribución normal (Kolmogorov-Sminorv, $P < 0.05$). Al no cumplir con las condiciones de normalidad, no fue necesario la prueba de homoscedasticidad (Zar, 2009). Posteriormente, se procedió a la prueba no paramétrica (prueba de Kruskal-Wallis por rangos), donde las tallas de AN de *G. grapsus* no registraron una diferencia significativa entre los cangrejos roca de las islas Guasayeye, La Ventana y San Lucas (p. Kruskal-Wallis, $P = 0.0001$).

Para fines comparativos con estudios posteriores de *G. grapsus*, se analizaron también estadísticamente los datos del PT (g) del cangrejo roca entre las islas, resultando que no presentaron una distribución normal (Kolmogorov-Sminorv, $P < 0.05$, a excepción de la población de isla La Ventana, Kolmogorov-Sminorv, $P > 0.05$). Al no cumplir con las condiciones de normalidad se omitió la prueba de homoscedasticidad, decidiéndose por una prueba no paramétrica (prueba de Kruskal-Wallis por rangos), resultando que no existen diferencias significativas del PT entre los organismos al comparar las tres islas (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$).

Al correlacionar las variables morfométricas del ancho, longitud y altura, se obtuvieron ecuaciones lineales, y entre anchura y peso, la ecuación resultante fue potencial, en todos los casos, los coeficientes de correlación (r^2) se ubicaron por encima de 0.98, lo que indica que existe una alta dependencia entre las variables morfométricas del cangrejo roca en las islas de bahía Navachiste. Al analizar la correlación entre el ancho del cefalotórax y el peso, se obtuvo una pendiente (b) de 2.79 ($P = 0.95$), lo que indica que la población de *G. grapsus* presenta un crecimiento isométrico (Figura 1).

La estimación de la fecundidad por hembra de *G. grapsus* en las islas, presentaron en promedio 9,245 cigotos, con una variación máxima y mínima de 122,287 y 511 huevos, los cuales coincidieron en isla San Lucas (Tabla 2).

Tabla 2. Máximo, mínimo y media del peso total de hembra (PTH), peso fresco de la masa ovígera (PFMO), peso seco de la masa ovígera (PSMO) en g y fecundidad (FEC=número de cigotos) de *Grapsus grapsus* en islas de bahía Navachiste.

Isla		PTH	PFMO	PSMO	FEC
Guasayeye	Máxima	8.6	0.169	0.063	16,135
	Mínima		0.024	0.006	648
	Media		0.069	0.023	4,201
La Ventana	Máxima	8.3	0.070	0.018	2,800
	Mínima		0.011	0.003	519
	Media		0.038	0.011	1,326
San Lucas	Máxima	87.5	2.505	0.845	122,287
	Mínima		0.014	0.004	511
	Media		0.551	0.161	22,208

DISCUSIÓN

Estructura de tallas

Los organismos se recolectaron por encima de las rocas o entre oquedades durante el periodo nocturno, lo cual coincide con Freire et al. (2010) quienes señalaron que las mayores actividades de *G. grapsus* son durante la noche. Los cangrejos roca con las tallas mayores siempre se ubicaron por encima de rocas tipo canto rodado, y generalmente estos cuando son sorprendidos por otros cangrejos de la misma especie, se introducen al agua de la laguna costera a través de un salto. Además, los organismos de *G. grapsus* con tallas grandes su cefalotórax cambia de tonalidad de verde olivo a rojo naranja, lo cual fue indicado por Romero (2003a), Fernández Sánchez (2012) y Freire et al. (2010), quienes atribuyen su cambio de color a efectos reproductivos y de agresividad.

Figura 1. Relaciones biométricas de a) anchura-longitud, b) Anchura-altura (mm) y c) longitud-peso (g) de *Grapsus grapsus* en islas de bahía Navachiste.

Las mayores tallas del cangrejos roca en las islas se recolectaron en San Lucas sobre hábitats rocosos con organismos abundantes de especies de moluscos bivalvos *Ostrea corteziensis*, *Ostrea gigas* y *Ostrea palmula*, mientras en isla Guasayeye, los organismos juveniles de *G. grapsus* se asociaron a moluscos gasterópodos *Cerithium stermuscarum*.

Los cangrejos de tallas pequeñas se recolectaron en la isla La Ventana, la cual presenta las menores zonas de rocas. Además, se observaron que los cangrejos roca se asociaron a crustáceos cirripedios (balanos) y macroalgas, las cuales de acuerdo a Romero (2003b) y Arteta-Bonivento (2009) constantemente *G. grapsus* depredan a ambos grupos.

Los datos obtenidos del ancho del cefalotórax fueron menores a los reportados por Brusca (1980) para cangrejos *G. grapsus*, quien indicó organismos entre 40 a 90 mm de anchura del cefalotórax, aunque este autor su recolecta de cangrejos roca correspondió al intermareal de todo lo largo del golfo de California, de tal forma que los aquí señalados corresponden a una zona de recolecta muy específica (islas de bahía Navachiste), quizás por ello, la diferencia fue muy marcada en las tallas observadas respecto a esta investigación, además, las islas Guasayeye, La Ventana y San Lucas, se localizan dentro de la bahía Navachiste al centro sur del golfo de California.

Los organismos también resultaron en menores tallas y pesos comparados con Gutiérrez et al. (2018), quienes obtuvieron en la zona intermareal de islas de la bahía Mazatlán ubicadas al sur de Sinaloa, tallas en promedio (AN 41.4 mm y PT 31.5 g) muy por encima de las aquí registradas, resultando evidente que las tallas y pesos de la población del cangrejo roca en la bahía Navachiste pudiera estar relacionada principalmente con la salinidad, ya que esta bahía se encuentra en una área semicerrada y que se comunica al golfo de California por dos aberturas permanentes, donde la salinidad varía a través del año por las precipitaciones (Flores Campaña et al., 2012) y por los flujos de corrientes marinas al sistema lagunar o viceversa (Sánchez-Lindoro et al., 2017), mientras que las islas que se localizan en la bahía Mazatlán se encuentran totalmente comunicadas con el golfo de California, es decir, agua completamente marina, donde los aportes de las precipitaciones no influyen en la salinidad de la bahía. Sin embargo, la presencia del cangrejo roca en el intermareal de las islas Guasayeye, San Lucas y La Ventana (bahía Navachiste), representa un aporte de interés para estudios referentes a estos ecosistemas, debido a que algunos autores han indicado mayores incidencias de *G. grapsus* en un hábitat intermareal rocoso marino (Brusca, 1997; Freire et al., 2010; Gutiérrez et al., 2018) que en un ecosistema lagunar.

En crustáceos de interés comercial, la utilización de modelos de frecuencias de tallas permite analizar la estructura de una población a través de la distribución de frecuencias de modas en longitud y peso como en langostas espinosas (Puga-López et al., 2015), camarones peneidos (Felix Ortiz et al., 2014) y otros cangrejos braquiuros (Guerrero y Arana, 2009, Peiro y Mantelatto, 2011, Rivera-Velázquez et al., 2018); debido a que en ocasiones es conveniente para el análisis poblacional sobre recursos pesqueros la utilización de la moda que la media, aunque como medida estándar es más común el promedio, sin embargo, en ocasiones la moda y la media no coinciden, por eso es conveniente para el análisis de la distribución de tallas de cualquier recurso, la moda como mejor representativo que el promedio en una evaluación pesquera.

En el presente, los valores de las medias y modas de anchura, longitud y altura de *G. grapsus*, fueron muy similares en milímetros, de tal forma que para su interpretación morfológica de la población del cangrejo roca, pueden ser utilizadas para su evaluación pesquera, aunque referente al peso, ambas variables (media y moda) no fueron similares,

de tal manera que para un mejor análisis poblacional de este recurso en esta zona, sería más recomendable a través del promedio que la moda del peso en *G. grapsus*.

Fecundidad

La estimación de fecundidad por hembra de *G. grapsus* resultó que la variación máxima y mínima coincidieron en isla San Lucas. En esta isla, resultó la hembra con el mayor peso corporal (137.5 g) y del peso fresco de la hueva (2.5 g). Es evidente que la única hembra de mayor peso presentó la mayor fecundidad, la cual no coincide con el patrón general de número de cigotos por hembra, a excepción de esta hembra, todas las demás se ubicaron en una fecundidad promedio similar debido a sus pequeñas tallas del cangrejo roca en las islas de la bahía Navachiste. La relación entre las menores tallas corporales y una menor fecundidad como las observadas en las islas Guasayeye, La Ventana y San Lucas, con 648, 519 y 511 huevos, respectivamente, ha sido señalado en hembras de *G. grapsus* por Teschima et al. (2007) y en hembras de *Macrobrachium amazonicum* por Aya-Baquero et al. (2013), indicando en ambos estudios que existe una relación directa entre el tamaño de la hembra con la cantidad de huevos.

La fecundidad aquí observada en las hembras fue muy por debajo de lo registrado por Teschima et al. (2007) para esta misma especie pero en hembras del Atlántico Occidental con una fecundidad promedio de 23,873 huevos por hembra, así como Gutiérrez Rubio (2015) en hembras de *G. grapsus* con una media de 23,354.8 cigotos en las islas Lobos, Venados y Pájaros de bahía Mazatlán. Es evidente que el tamaño del abdomen donde se localizan los pleópodos y donde se incuban los huevos de las hembras aquí registradas resultaron menores que las señaladas en estos dos últimos estudios.

En contraste, en cangrejos comerciales *Callinectes arcuatus* y *Callinectes bellicosus*, Escamilla-Montes (2013) estimaron valores promedio por encima del millón de cigotos por hembra, lo cual corresponden a hembras con mayores tallas del cefalotórax y abdomen y por consiguiente una mayor incubación que *G. grapsus*. Algunos autores como Ramírez Llodra (2002) y Clores y Ramos (2013) han indicado que las variaciones en la fecundidad por hembras están directamente relacionadas con el hecho de que una hembra esté o no realizando su primer desove. Aunque las variaciones en los diferentes estudios de fecundidad en crustáceos están relacionadas entre otros por las tallas de las hembras, con su distribución latitudinal y con los hábitats (Teschima et al., 2007; Guerrero y Arana, 2009; Freire et al., 2010; Clores y Ramos, 2013).

CONCLUSIONES

Por sus tallas del cangrejo roca *G. grapsus* en islas de bahía Navachiste podría ser considerado a nivel de sustento (autoconsumo) por su fácil acceso y captura en el intermareal de las islas. Sin embargo, para el establecimiento de medidas de su regulación con base a las características biológicas del recurso tales como la estructura de tallas y la fecundidad en la población de *G. grapsus*, sin duda, deben de tener un efecto favorable en su posterior administración y manejo de este recurso en esta zona.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca otorgada al primer autor, al personal del Cuerpo Académico Consolidado Manejo de Recursos Pesqueros (UAS-CA-2104), a Jennifer Tirado López por los análisis de campo y a los pescadores ribereños de la bahía Navachiste.

LITERATURA CITADA

- Anónimo 1988. *Islas del Golfo de California*. Distrito Federal: Secretaría de Marina/Universidad Nacional Autónoma de México. 292p.
- Arteta-Bonivento, R. 2009. Cangrejos en el Delta Rio Ranchería, Riohacha (Colombia) (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural*, 13(1): 140-152pp.
- Arzola-González, J.F.; Flores-Campaña, L.M. 2008. Alternativas para el aprovechamiento de los crustáceos decápodos del estero El Verde, Camacho, Sinaloa, México. *Universidad y Ciencia*, 24(1): 41-48pp.
- Arzola-González, J.F.; Flores-Campaña, L.M.; Vázquez-Cervantes, A. 2010. Crustáceos decápodos intermareales de las islas de la costa de Sinaloa, México. *Universidad y Ciencia*, 26(2): 179-193pp.
- Arzola-González, J.F.; Pérez-González, R.; Muñoz-García, I.; Gutiérrez-Rubio, Y.; Flores-Campaña, L.M. 2011. Distribución de tallas de langostas *Panulirus inflatus* y *Panulirus gracilis* en la pesquería del sur de Sinaloa, México. *Revista Latinoamérica de Recursos Naturales*, 7(1): 15-50pp.
- Bagenal, T. 1978. Aspects of fish fecundity. In: Blackwell Scientific Publications, L. Methods of Assessment of fish production in fresh waters. Handbook. 98p.
- Bárceñas-Gutiérrez, S.Q.; Jáuregui-Velázquez, E.E. 2017. Aspectos del comportamiento de *Grapsus grapsus* en la zona intermareal de Puerto Vallarta, Jalisco, México. *BYOCIP Biología, Ciencia y Tecnología*, 10(37): 672-686pp.
- Brusca, R. 1980. Common intertidal of invertebrados of the Gulf of California. The University of Arizona Press. 571p.
- Clores, M.A.; Ramos, G.B. 2013. Reproductive characteristics of the brachyuran crab, *Grapsus tenuicrustatus* (Decapoda: Grapsidae) found in Talim Bay, Batangas, Philippines. *Arthropods*, 2(3): 111-125pp.
- Diario Oficial de la Federación, 2000. Acuerdo secretarial que actualiza la categoría de protección de las islas del Golfo de California. Diario Oficial de la Federación. 07 de junio de 2000. D.F., México.
- Escamilla-Montes, R.; De la Cruz-Agüero, G.; Villalejo-Fuerte, M.T.; Diarte-Plata, G. 2013. Fecundidad de *Callinectes arcuatus* y *C. bellicosus* (Decapoda: Brachyura: Portunidae) en la Ensenada La Paz, Golfo de California, México. *Revista Universidad y Ciencia*, 29(1): 53-61pp.
- Felix-Ortiz, J.A.; Siu-Quevedo, E., Castañeda-Lomas, N., Rodríguez-Domínguez, G., Rodríguez-Montes de Oca, G., Aragón-Noriega, E.A. 2014. Species composition and timing of Peneid Shrimp postlarvae (Decapoda: Peneidae) in the two sones of the Mexican Pacific Coast. *Crustacean*, 87(7): 801-813pp.

- Fernández Sánchez, E. 2012. Efecto del color del oponente en el comportamiento agresivo del *Grapsus grapsus* (Crustacea: Decapoda). *Anales Universitarios de Etología*, 6: 1-10pp.
- Flores-Campaña, L.M.; Ortiz-Arellano, M.A.; Arzola-González, J.F. 2003. Islas e islotes. En: Cifuentes-Lemus J.L.; Gaxiola-López J. Atlas de los Ecosistemas de Sinaloa. El Colegio de Sinaloa. México. p 111-126.
- Flores-Campaña, L.M.; González-Montoya, M.A.; Ortiz-Arellano, M.A.; Arzola-González, J.F. 2007. Estructura poblacional de *Chiton articulatus* en las islas Pájaros y Venados de la bahía Mazatlán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78: 23S-31Spp.
- Flores-Campaña, L.M.; Arzola-González, J.F.; Ramírez-Soto, M.; Osorio-Pérez, A. 2012. Repercusiones del cambio climático global en el estado de Sinaloa. *Cuadernos de Geografía/Revista Colombiana de Geografía*, 21: 115-129pp.
- Freire, A.S.; Pinheiro, A.A.; Karam-Silva, H.; Teschima, M.M. 2010. Biology of *Grapsus grapsus* (Linneaus, 1758) (Decapoda: Brachyura) in the Saint Peter and Saint Paul Archipelago, Equatorial, Atlantic Ocean. *Helgoland Marine Research*, DOI 10.1007/510152-010-0220-5.
- Guerrero, P.; Arana, P. 2009. Size structure and sexual maturity of the Golden (*Chenon chilensis*) exploited off Robinson Crusoe Island, Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 37: 347-360pp.
- Gutiérrez-Rubio, Y. 2015. Estructura de tallas, relaciones biométricas, fecundidad, crecimiento del cangrejo de roca *Grapsus grapsus* en la zona intermareal de las islas Lobos, Venados y Pájaros de la bahía de Mazatlán, Sinaloa. Mazatlán (Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa).
- Gutiérrez-Rubio, Y.; Pérez-González, R.; Campos, E.; Arzola-González, J.F. 2018. Estructura de tallas y relaciones biométricas del cangrejo roca *Grapsus grapsus* en las islas Lobos, Venados y Pájaros, Sinaloa, México. *Hidrobiológica*, 28 (1): 31-36p.
- Hendrickx, M.; Brusca, R.; Findley, L.T. 2005. *Listado y distribución de la macrofauna del Golfo de California, México*. Parte I. Invertebrados. Arizona-Sonora Desert Museum. 429p.
- Hattori, G.Y.; Pinheiro, M.A. 2001. Fecundity and embryology of *Pachycheles monilifer* (Anomura: Porcellanidae) at Praia Grande, Ubatuba, SP, Brazil. *Nauplius*, 9(2): 97-109pp.
- Ortiz-Arellano, M.A.; Flores-Campaña, L.F. 2008. Catálogo descriptivo e ilustrativo de los moluscos de la zona intermareal de las islas de la bahía de Navachiste, Sinaloa, México. Universidad Autónoma de Sinaloa. 157p.
- Puga-López, D., Patiño-Valencia, J.L., Hernández-Cuarrubias, V., Ulloa-Ramirez, P.A., Torres-Herrera, M.R., Ponce-Palafox, J.T. 2015. Aspectos reproductivos de la langosta espinosa *Panulirus* spp. en las costas de Nayarit, México. *Ciencia pesquera*, 23(1): 13-24pp.
- Ramírez Llodra, E. 2002. Fecundity and life-history strategies in marine invertebrates. *Advances in Marine Biology*, 43: 87-170pp.
- Rivera-Velázquez, P.Y., Aragón-Noriega, E.A., Rodríguez-Domínguez, G. Pérez-González, R. Castillo-Vargasmachuca, S.G. 2018. Growth, maturity and mortality of the blue crab *Callinectes arcuatus* (Decapoda: Portunidae) In: A Mexican Coastal Lagoon. *Crustaceana*, 91(6): 659-675pp.
- Ricker, W.E. 1975. Computation and interpretation on biological statistics of fish populations. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 191: 1-382pp.

- Rodríguez-Domínguez, G.; Castillo-Vargasmanchuca, S.; Pérez-González, R.; Aragón-Noriega A.E. 2012. Estimation of the individual growth parameters on the brown crab *Callinectes bellicosus* (Brachyura: Portunidae) using a multi-model approach. *Crustaceana*, 85(1):55-69pp.
- Romero, L. 2003a. Comportamiento reproductivo y mutilaciones en el cangrejo de las rocas *Grapsus grapsus* (Crustacea: Decapoda). *Revista Peruana de Biología*, 10(2): 195-202pp.
- Romero, L. 2003b. Observaciones sobre el comportamiento social del cangrejo rocas *Grapsus grapsus*. *Revista Peruana de Biología*, 11(1): 112-119pp.
- Sánchez-Lindoro, FJ; Jiménez-Illescas, AR; Espinoza-Carrión, TL; Obeso-Nieblas, M. 2017. Modelo hidrodinámico en el sistema Lagunar Navachiste, Guasave, Sinaloa, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(2): 219-231.
- Teschima, M.M.; Aguiar, M.M.; Farías, E.; Meneses, B.S.; Moreira, MC.; Pinheiro, M.A.; Freire, A.S. 2007. Fecundidade do caranguejo *Grapsus grapsus* no Arquipélago de Sao Pedro e Sao Paulo. *En: Resúmenes del VII Congreso Latino-Americano de Ciencias do Mar*. Florianópolis, Brasil. 15 al 19 Abril del 2007.
- Zar, JH. 2009. *Bioestatistical analysis*. Three edition. Prentice-Hall Inc. Upper Saddle River, USA 960p.

EFFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO EN LA GERMINACIÓN Y SUPERVIVENCIA DE PITAYA (*Stenocereus thurberi*) EN EL NORTE DE SINALOA

Roberto Carlos Cárcamo Aréchiga, Álvaro Reyes Olivas, Bardo Heliodoro Sánchez Soto, Gabriel Antonio Lugo García

Doctorado en ciencias Agropecuarias,
Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte
Universidad Autónoma de Sinaloa.

carcarechiga@yahoo.com.mx

RESUMEN

La Pitaya Dulce (*Stenocereus thurberi*) es una cactacea columnar que vive en el norte de Sinaloa, tiene importancia económica, ecológica y cultural, se busca realizar un estudio de la dinámica poblacional de la especie en tres comunidades diferentes siguiendo un gradiente altitudinal, con una población cercana a la costa de Topolobampo, en el municipio de Ahome, una población en la comunidad de Buenavista, municipio de El Fuerte y una comunidad en el poblado las cruces, municipio de Choix. Los tres sitios pertenecen a ecosistemas diferentes y poseen diferente clima. Se busca conocer la capacidad de supervivencia de la especie en las diferentes etapas de su ciclo de vida, así como natalidad, y la fecundidad para entender su capacidad de adaptarse como especie al contexto del cambio climático y sus implicaciones en las diferentes etapas de desarrollo de la planta. Se categorizaron las plantas en 10 diferentes tamaños. Se realizaron experimentos de germinación y supervivencia, también se dio seguimiento al crecimiento de individuos correspondientes a las diferentes categorías de tamaño. Se encontró una depredación muy elevada de semillas, así como una baja sobrevivencia, de entre un 10% y 15%. Experimentos de nodricismo mostraron que con nodrizas del 50% son suficientes para la supervivencia de las plántulas. 30°C fue la temperatura donde mayor número de semillas germinaron.

ABSTRACT

The Pitaya Dulce (*Stenocereus thurberi*) is a columnar cactus that lives in the north of Sinaloa, it has economic, ecological and cultural importance, A study of the population dynamics of the species in three different communities is sought following an altitudinal

gradient, with a population close to the topolobampo coast, in the municipality of Ahome, a population in the community of Buenavista, municipality of El Fuerte and a community in Las Cruces, municipality of Choix.. The three sites belong to different ecosystems and have different climates. The aim is to know the survival capacity of the species in the different stages of its life cycle, as well as the birth rate, and the fertility to understand its ability to adapt as a species to the context of climate change and its implications in the different stages of development. of the plant. The plants were categorized into 10 different sizes. Germination and survival experiments were carried out, and the growth of individuals corresponding to the different size categories was also monitored. A very high seed predation was found, as well as a low survival, between 10% and 15%. Nodricism experiments showed that with nursery plants that covers 50% are sufficient for the survival of the seedlings. 30°C was the temperature where the greatest number of seeds germinated.

INTRODUCCIÓN

México se ubica entre los cinco primeros países llamados “megadiversos”, que albergan entre 60 y 70% de la diversidad biológica conocida del planeta. La diversidad conjunta de especies de México representa aproximadamente 12% del total mundial, posee tres de las 34 ecorregiones del planeta (Conabio, 2006). Su riqueza biológica es el producto de la combinación de la topografía y climas encontrados en la superficie (Flores- Villela y Gerez, 1994), los cuales se mezclan creando un mosaico muy diverso de condiciones ambientales y micro ambientales; además, México cuenta con una historia geológica compleja que lo situó entre Norteamérica y Sudamérica, posición geográfica que le otorga un carácter único de transición florística y faunística que no tiene comparación en el planeta (Savage, 1982).

Esta situación permite que exista un alto índice de endemismo considerado entre los más importantes del continente americano. Si bien, los estados del sureste albergan casi el 70% de las especies conocidas de México, los estados del centro y del noroeste son igualmente importantes por la presencia de muchas de las especies exclusivas del país (Paredes, *et. al.* 2000). Una de las familias más representativas de la diversidad biológica de México es la cactaceae, la cual constituye un grupo de plantas excepcionalmente diverso por su gran variedad morfológica y taxonómica. Las cactáceas son exclusivas del continente americano y tienen su principal centro de diversificación en México (Hernández, *et. al.* 2007). Se encuentran entre las plantas más notables y características en los paisajes de las zonas áridas de México, si bien es cierto, estas plantas sorprenden por la extraordinaria forma de sus tallos y la belleza de sus flores, también resultan muy interesantes por la anatomía de sus estructuras y variedades fisiológicas, que resultan en ambos casos indicadores de su admirable adaptación a la sequía (**Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978**).

Stenocereus es uno de los diez géneros de la tribu Pachycereeae, que se reconoce como un grupo monofilético de amplia distribución desde el sur de Arizona hasta el norte de Venezuela y Colombia, y en algunas islas. Este género contiene 23 especies, de las cuales la mayoría son endémicas de México (**Arreola y Terrazas, 2003**) y presenta una amplia diversidad de formas de crecimiento, entre ellas, árboles de porte recto y largo como en *S. chacalapensis* y *S. griseus*, hasta tallos completamente horizontales como en *S. eruca* (**Terrazas, et. al. 2005**).

Stenocereus thurberi son árboles de hasta 7 m de alto; tronco no definido o corto, con ramas numerosas, que rara vez se vuelven a ramificar, robustas en la base, casi todas de la misma longitud, y de un diámetro aproximado de entre 10 y 25 cm, verdes claras, con entre 12 y 21 costillas; las aréolas distan entre sí de 1-3 cm, redondeadas y color marrón a negro; espinas radiales 7-9, de color negro a grisáceo, las flores son nocturnas, con forma tubular y de entre 6 y 8 cm de largo y 3 a 5 cm de ancho miden de 6 a 8 cm de largo y abren al atardecer y cierran al medio día del siguiente día, coloración entre el blanco y el crema con un exterior verde y en algunos casos morados. fruto globoso a ovoide, dehiscente en la madurez por una abertura irregular, verde a rojizo, de entre 3.5 a 6 cm de diámetro, cubierto por aréolas alrededor de 1 cm de diámetro, con numerosas espinas que caducan en la madurez, la pulpa roja o blanca de sabor dulce con numerosas semillas color negro brillante (**Arreola y Terrazas, 2003**).

La demografía es el área de la ecología que estudia la dinámica de poblaciones biológicas con el propósito de caracterizar sus cambios en términos de nacimientos, muertes y transiciones entre diferentes estados, tamaños o edades (Silva et al. 1999).

La formalización del ciclo de vida, mediante modelos matriciales, es una herramienta muy poderosa para conectar los procesos demográficos con la dinámica poblacional de diferentes tipos de organismos (Caswell, 2001). Los parámetros que se necesitan para armar un ciclo de vida son la supervivencia y la fecundidad. Los resultados clásicos de los análisis de perturbación con modelos matriciales básicos muestran que, en general, la dinámica poblacional de las especies de tiempo generacional largo está gobernada por la supervivencia adulta mientras que la dinámica poblacional de las especies de tiempo generacional corto depende sobre todo de los parámetros de fecundidad (Lebreton & Clobert, 1991). Mientras que el papel de la dependencia de la densidad en la dinámica poblacional de las plantas anuales y herbáceas perennes se ha demostrado claramente, no ha sucedido lo mismo para las poblaciones de árboles, especialmente las especies tropicales (Silva et al. 1999).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el norte de nuestro estado, la pitaya dulce (*S. thurberi*), es una especie representativa, que tiene una gran importancia ecológica, económica y cultural, ya que tiene una interacción muy estrecha con muchas especies de fauna y por el papel que tiene en la dinámica de los ambientes donde se distribuye, sus frutos aportan al sustento de familias durante la temporada, ya que en época de fructificación son colectados y vendidos en comercios locales.

Conocer la dinámica poblacional de la especie sería una herramienta muy importante para describir su historia de vida, analizar la persistencia de una población y comparar la dinámica entre diferentes poblaciones proporcionarían un importante fundamento que permitiría determinar el potencial de uso y aprovechamiento del recurso, sin afectar su sostenibilidad.

Es por ello que este estudio busca contribuir a la generación de información sobre el ciclo de vida de esta especie en particular. Sin duda, el estudio de la dinámica poblacional en diferentes ambientes ayudará al buen aprovechamiento de la especie y a la par se garantice la permanencia de las poblaciones naturales.

Una de las más importantes generalizaciones sobre ecología de las plantas es que la distribución de los distintos tipos de vegetación está fuertemente controlada por el clima (Stephenson, 1990), los ecosistemas responden a los cambios de temperatura y precipitación lo cual inevitablemente tiene un impacto en la biodiversidad (Thomas et al, 2008), es por esto que una herramienta importante para determinar épocas de cosecha y elaborar modelos de producción así como su capacidad de adaptarse a las posibles consecuencias del cambio climático y los pronósticos que de este existen para la localidad será el conocer la dinámica poblacional de esta especie.

En los ecosistemas locales es poco el conocimiento que se tiene sobre los efectos que tendrá el aumento de la temperatura y las variaciones en las precipitaciones pronosticadas para la región como efecto directo del cambio climático, por lo que es importante buscar entender que especies se verán afectadas en la localidad y poder tener herramientas más eficientes para tomar decisiones respecto al cuidado y protección de dichas especies.

HIPÓTESIS

Las semillas de *Stenocereus thurberi* tienen una alta capacidad germinativa, sin embargo, esa capacidad se ve afectada por el factor clima, el cual tendrá un efecto importante conforme se incrementa la temperatura. En campo la supervivencia de las plántulas estará muy influenciada por el efecto nodriza de las plantas o rocas que se encuentren protegiéndolas.

La estructura poblacional de los tres sitios de estudio presenta diferencias significativas respecto al número de individuos por categoría de tamaño, debido a que los tres sitios presentan condiciones ambientales diferentes.

Como en la mayoría de las cactáceas el crecimiento anual de los individuos es muy poco, pero el crecimiento será mayor en el sitio donde la competencia por recursos como la luz sea mayor.

Existe un efecto positivo en la cantidad de semillas que germinarán en condiciones de nodrismo, mientras que las semillas que estén expuestas al sol germinarán menos. Además bajo condiciones de nodrismo las plántulas sobreviven y expuestas al sol morirán en pocos días.

Los diferentes niveles de la matriz de proyección se manifiestan de diferente forma en los tres sitios de estudio debido al efecto del clima.

OBJETIVO GENERAL

Este estudio tiene como finalidad conocer la dinámica poblacional de la Pitaya Dulce (*Stenocereus thurberi*) en el norte del estado de Sinaloa, en tres diferentes localidades con climas y ecosistemas diferentes para evaluar el efecto del cambio climático en una especie de importancia económica, ecológica y cultural.

ESPECÍFICOS

- Conocer el porcentaje de germinación y supervivencia de plántulas de *Stenocereus thurberi* en invernadero y en campo.
- Conocer el porcentaje de individuos por categoría de tamaños por sitio de estudio.
- Conocer el crecimiento anual de los individuos de las diferentes categorías de tamaño.
- Determinar si existe un efecto en el porcentaje de semillas que germinan en condiciones de cielo abierto y con nodricismo.
- Describir si existe variación en el crecimiento de las plántulas que germinaron bajo las condiciones anteriores.
- Elaborar una matriz de proyección de la especie de estudio (*Stenocereus thurberi*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio (invernadero)

El experimento se realizará en el Invernadero de la Escuela de Biología, localizada en Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México. La ubicación geográfica de 24° 49' 38'' Latitud Norte: y -107° 22' 47''. Longitud Oeste, con una altitud de 53 m. El municipio tiene una temperatura media anual es de 26°C, con una mínima de 2°C, la precipitación pluvial promedio de 686.3 mm, con clima húmedo y caliente en verano, mientras que en invierno la temperatura es agradable, con escasas precipitaciones, los vientos dominantes se desplazan en dirección noroeste, desarrollando una velocidad aproximada de dos metros por segundo (Estación meteorológica, 2016).

Descripción del área de estudio (campo)

El estudio se realizará en tres áreas con diferente orientación. Desde la montaña a la costa, la primera población se encuentra en Las Cruces se localiza en las coordenadas 26° 53' 18,60" N y 108° 23' 12,19" O, a una altitud de 350 msnm, a una distancia de 18 km al norte de la cabecera municipal de Choix, Corresponde al pie de montaña, siendo este el lugar

más elevado de los sitios de estudio. La estación meteorológica más cercana, es la estación “Huites” con clave 25044 del Sistema Meteorológico Nacional (SMN) la cual registra una precipitación media anual de 830 mm y temperatura media anual de 27,31 °C, media máxima de 35,1 °C y una media mínima de 16,1 °C. El tipo de suelo característico es el Litosol con vegetación de selva baja.

El siguiente sitio de muestreo se localiza en Buenavista, Municipio de El Fuerte con coordenadas 26° 04' 00,45" N y 108° 46' 53,96" O, a una elevación de 150 msnm, 6 km al norte de San Blas. La estación meteorológica más cercana es “Bocatoma” con clave 25009 del SMN localizada a 5 km del sitio de estudio, la cual registra una precipitación media anual de 472.3 mm, una temperatura media anual de 23,8 °C, media máxima de 33,1 °C y media mínima de 17,6 °C. El suelo es Litosol con una vegetación de bosque espinoso.

El tercer sitio de muestreo se localiza en el Ejido Plan de Guadalupe cuyas coordenadas son 25°41'32,77" N y 109°08'54,59" O, a una altitud de 0 msnm, a 12 km del puerto de Topolobampo, la estación meteorológica más cercana es la estación Mochis número 21116 del SMN con una precipitación media anual de 244.1 mm, temperatura media anual de 24,4 °C, media máxima de 30,6 °C y media mínima de 20,8 °C, el suelo dominante es Solonchak y su vegetación dominante es matorral xerófilo.

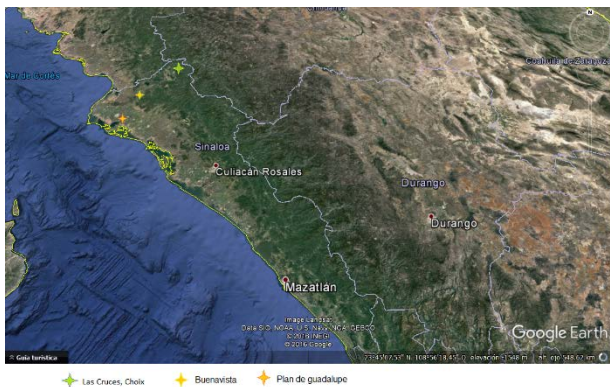


Figura 1.- Ubicación geográfica de sitios de muestreo.

Descripción Botánica de la Especie bajo estudio.

Stenocereus thurberi (pitaya dulce), es un cactus columnar de 3-8 m de altura con numerosos tallos verticales ramificados desde la base del tronco o desde un tronco cortó.

Los tallos miden de 15 a 20 cm de diámetro y presentan de 12 a 19 costillas. Las espinas son de color gris o negro de 1.2 a-2.5 (ocasionalmente 4) cm de largo y están agrupadas en aréolas con 12 espinas radiales y 1-3 centrales. Las flores son hermafroditas, tubulares, de color blanco a crema con un exterior verde y en muchos casos morados. Miden de 6 a 8 cm de largo y abren al atardecer y cierran al medio día del siguiente día (Turner et al., 1995). Los frutos tienen forma esférica, maduran durante todo el verano; murciélagos, humanos y otros mamíferos los consumen y son probablemente agentes en su dispersión (Fleming and Sosa, 1994; Yetman and Burquez, 1996). Las plantas suelen tener 4 -10 brazos al inicio de la madurez reproductiva (Parker, 1987). La distribución de la especie está restringida al pacífico en el noroeste de México, desde el norte de Sinaloa y oeste de Chihuahua hasta el sudeste de Arizona en Estados Unidos, también es común en baja California y en las islas del Golfo de California (Turner et al., 1995).

Diseño experimental

En los tres sitios de muestreo se etiquetaron los individuos con placas de poliestireno, las cuales quedaron fijadas al tallo por medio de aro de alambre metálico, las etiquetas fueron numeradas y se registró la altura del tallo más alto en una libreta de campo para llevar el registro, se seleccionarán 100 individuos por sitio de muestreo, estos individuos pertenecen a la mayor diversidad de estadios del ciclo de vida posible en el área de estudio. El objetivo de las etiquetas es identificar cada individuo con un número para hacer las comparaciones de las medidas de las plantas en los años siguientes del estudio. De esta manera podremos medir el crecimiento de los individuos de forma anual por un período de 3 años. Se dará seguimiento a 3 individuos por categoría de tamaño y se obtendrá la cantidad de individuos por categoría de tamaño.

✓ Germinación:

La evaluación de la germinación y supervivencia de las plántulas se realizó bajo un diseño completamente al azar, con 3 repeticiones por sitio de estudio para verificar el porcentaje de germinación (PG) de las semillas utilizando la fórmula presentada por Argentel, Garatuza, Yépez y de los Santos (2016), en función del total de semillas establecidas mediante la fórmula:

$$PG (\%) = (GS/GC) * 100 \quad (3, 14)$$

donde:

PG representa el porcentaje de germinación

GT y GP representan los porcentajes de germinación de semillas en con incremento de temperatura y testigo, respectivamente.

Para la separación de las semillas se utilizó la metodología aplicada por Pérez (2013) el cual mediante la agitación en un recipiente con agua, seguida por filtración con una malla de 0.5 mm y lavado con agua corriente para eliminar residuos de la pulpa. Después de secarse a temperatura ambiente, las semillas se guardaron en bolsas de papel estraza y se almacenaron a temperatura de 25°C hasta el inicio de los ensayos. Se evaluarán en unidades experimentales de 50 semillas, distribuidas en cuatro repeticiones utilizando cajas plásticas transparente las cuales contendrán 500g de suelo de la localidad de origen de las semillas, con un tamizado previo en malla de 1 mm, además se realizarán las pruebas de germinación en campo, donde al suelo se le dará un tratamiento de solarización para evitar el crecimiento de otras plantas que nos puedan afectar el experimento.

Los frutos se colectaron en los tres sitios de muestreo, durante todo el periodo de fructificación de la planta y solo se colectaron frutos maduros, siguiendo las recomendaciones de Baskin y Baskin (1998) y los estudios se realizaron en un periodo no mayor a 10 días posteriores a la colecta.

Continuando con la metodología de Baskin y Baskin (1998) se verificó que las semillas no tuvieran humedad y que no se encontraban en imbibición. Se realizaron tres réplicas de 50 semillas por tratamiento en cada sitio de muestreo para garantizar la fiabilidad de los datos obtenidos. Se buscara identificar la posición en la que exista un mayor porcentaje de germinación por lo que se dejaran germinando semillas a la sombra (copa de planta nodriza) y directo a la luz, para evitar la depredación de las semillas se utilizará una trampa de PVC con reja de malla de fierro en donde estarán protegidas las semillas para evitar que entren principalmente insectos y roedores. También se realizará el experimento sin protección para cuantificar la importancia de la granivoría en campo, para esto se colocarán semillas

Se registrará cada quince días el sitio para revisar primero la germinación y posteriormente el crecimiento de las plántulas y su sobrevivencia, se buscara registro de depredación y se verificara que la trampa se encuentre en óptimas condiciones para seguir protegiendo a la plántula.

Análisis estadístico

Se aplicará un análisis de varianza de una vía para evaluar el efecto de los cambios de temperatura en la germinación, así como para diferenciar el tiempo de permanencia de las plántulas estudiadas. Los análisis estadísticos se realizarán en SAS (SAS Institute, 2009). Asimismo se buscará mediante un análisis de varianza de dos vías conocer si existe alguna diferencia en los tres sitios de estudio, esto siguiendo las recomendaciones de Medina (2004).

✓ Supervivencia

Siguiendo las recomendaciones de Álvarez y Montaña (1997), los cuales realizaron un estudio de germinación y supervivencia con cinco especies de cactáceas en el valle de Tehuacán; para la evaluación de la supervivencia de plántulas estas se instalaran en sitios con iluminación directa y a la sombra, en los sitios de muestreo y realizando cinco repeticiones por tratamiento (luz y sombra).

La supervivencia fue evaluada de manera visual utilizando la metodología con la metodología de Barchuk y Díaz (2000), la cual indica que si el ejemplar presenta signos de marchitez, ausencia de turgencia y pérdida de coloración característica de la especie, se le considerará muerto. Las mediciones se realizaron cada quincena durante seis meses, ya que es el tiempo en el que muere en campo la mayoría de plantas. Las plántulas sobrevivientes se mantendrán en campo para analizar su crecimiento y formarán parte del grupo que se utilizara en la matriz de proyección.

La variabilidad en el porcentaje de supervivientes se analizara con los mismos modelos estadísticos utilizados para examinar los resultados de germinación.

✓ Matriz de proyección

Siguiendo las recomendaciones de Jiménez, Mandujano, Eguiarte (2006) y Godínez y Valiente (2004) las categorías de tamaño se determinaron siguiendo un criterio ontogénico en ocho estadios para el ciclo de vida, tomando en cuenta como diámetro total del organismo la suma del máximo diámetro de cada brazo; la plántula (0-15cm altura), juvenil 1 (15-50 cm altura), juvenil 2 (50-100cm altura), adulto 1 (101-200 cm altura), adulto 2 (200-300 cm altura), adulto 3 (300 - 400 cm altura) adulto 4 (400–500 cm altura), adulto 5 (500-600 cm altura), adulto 6 (600–700 cm altura), adulto 7 (más de 700 cm altura).

Para construir el modelo matricial, las probabilidades de estasis y transición entre las categorías de tamaño se estimarán calculando la proporción de individuos que permanezcan en la misma categoría o pasaron de una categoría a la siguiente en un año.

En cuanto a las fecundidades, estas se calcularán como el producto de la probabilidad de reproducción, el número medio de frutos por planta, el número medio de semillas por fruto y la probabilidad de pasar de semilla a plántula. A su vez, la probabilidad de pasar de la semilla a la plántula será obtenida de los resultados de los experimentos de germinación de las semillas y supervivencia de las plántulas.

La matriz estará compuesta de tres partes: La primera fila tendrá valores de fecundidad para todas las categorías de tamaño reproductivo; La diagonal principal define las probabilidades de estasis, o las proporciones de individuos en el tamaño o categoría i que permanezcan en la misma categoría después de un intervalo de tiempo; Y La primera sub-diagonal define las probabilidades de transición, o proporción de individuos en categoría de tamaño i que crecen a la categoría siguiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios en cámaras de crecimiento para evaluar la germinación a diferentes temperaturas se realizó en contenedores plásticos de 23 x 18 cm con sustrato procedente de la localidad de dónde provenía la semilla, las temperaturas fueron 10, 12, 15, 20, 30, 40, 45 y 50; tanto en la primera como la última temperatura no se registró germinación en ninguno de los tres sitios de estudio, la temperatura donde mayor germinación se presentó fue a los 30°C para los tres sitios de estudio.

La supervivencia en campo continúa evaluándose, sin embargo existen algunos datos preliminares. La semilla que es depositada sin ningún tipo de protección tiene muy pocas posibilidades de sobrevivir, se realizaron repeticiones del experimento debido a la alta granivora en los tres sitios de estudio, en un primer experimento se sembraron 500 semillas por sitio, repartidas en 10 módulos experimentales, sin obtener supervivencia de la semilla para los primeros 15 días. Se sembraron posteriormente 1000 semillas por sitio las cuales tuvieron un porcentaje de germinación y supervivencia a los 15 días del 6.9%, a la fecha se siguen verificando y ese porcentaje se ha reducido.

Se sembraron plántulas en campo para evaluar la supervivencia, se llevaron 500 plántulas por sitio de estudio, las cuales al mes ya se habían reducido al 15% aproximadamente, también continua el monitoreo de la supervivencia.

Se realizó una siembra de semillas en cámaras de techo abierto, con la finalidad de obtener los efectos del cambio climático en la germinación y supervivencia, se obtuvieron porcentajes de germinación de entre el 45 y el 60%, continua el monitoreo y el número de individuos disminuyó, sin embargo se estima que los individuos recuperen turgencia en la siguiente temporada de lluvias.

Los experimentos de nodricismo se realizaron con invernaderos de 1.5m por 1.5m con diferentes niveles de sombreo, del 50, 65, 80 y 95, así como un testigo sin sombra, no se encontró una diferencia ente la supervivencia en los invernaderos con sombra, sin embargo en el testigo sin sombra, las plántulas no sobrevivieron.

CONCLUSIONES

Aunque faltan muchos resultados para poder comparar entre los años y poder tener un panorama estadístico más amplio y fiable, los diferentes experimentos realizados arrojan resultados que preocupan respecto a la vulnerabilidad de la especie en relación a los efectos del clima en su supervivencia.

El número de individuos que se reclutan por temporada por lo visto en los experimentos es muy bajo y con las condiciones del clima actual en donde se presentan temporadas de lluvias muy irregulares con lluvias muy intensas, es probable que esto no varíe, sobre todo porque existe además un alto índice de depredación del fruto y la semilla.

El crecimiento de las plantas resulto muy irregular y muy particular de cada individuo, esto obviamente falta por verificar en los años siguientes y es difícil obtener una conclusión con pocos datos, pero por lo revisado en la literatura y observado en campo es poco probable que esto cambie.

Fenómenos como la tormenta 19-E registrada el 19 de septiembre de 2018 son perjudiciales para la supervivencia de muchas especies, en el caso de la pitaya en estudio, durante esta temporada se registró una pérdida importante de frutos en las plantas, así como de semillas

en el suelo, estos efectos negativos es probable sean más frecuentes y si suceden antes del establecimiento el reclutamiento no se dará.

Seguir un monitoreo de la especie es importante para obtener datos certeros sobre su dinámica poblacional y entender como esta se verá afectada por el cambio climático y saber si podrá responder ante los embates del clima.

LITERATURA CITADA.

Álvarez, M. G. y Montaña, C. (1997) Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del valle de Tehuacán: implicaciones para su conservación. *Acta Botánica Mexicana*, 40, 43 – 58.

Argente L., Garatuza J., Yépez E., De los Santos Sergio (2016) Evaluación de la tolerancia de variedades mexicanas de trigo a la salinidad, a través de indicadores fisiológicos, bioquímicos y agronómicos, cultivadas en Cuba en condiciones de campo. *Cultivos Tropicales*, 37(1), 91-101.

Arreola, H., & Terrazas, T. (2003). Especies de *Stenocereus* con aréolas morenas: clave y descripciones. *Acta Botanica Mexicana*, (64), 1 - 18.

Barchuk, A. H. y M. P. Díaz (2000) Vigor de crecimiento y supervivencia de plantaciones de *Aspidosperma quebracho-blanco* y de *Prosopis chilensis* en el Chaco árido. *Quebracho* 8: 17–29.

Baskin C.C., Baskin J.M. (1998) *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press Inc, San Diego, CA, USA.

Bravo-Hollis, H. y H. Sánchez-Mejorada (1978) *Las cactáceas de México*. Tomo I. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Caswell, H. & Werner P.A. (1978). Transient behavior and life history analysis of teasel (*Dipsacus sylvestris*). *Ecology* 59: 53-66

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio) (2006) Capital natural y bienestar social. Semarnat. México, D. F., México. 32 p.

Flores Villela, O. A. & P. Gerez (1994) Biodiversidad y Conservación en México: Vertebrados, Vegetación y uso de Suelo. CONABIO-UNAM, México, 439 pp.

Godínez H., Valiente A. (2004) Demography of the columnar cactus *Neobuxbaumia macrocephala*: a comparative approach using population projection matrices. *Plant Ecology*, 174, 109-118.

Hernández JG, Chávez RJ, Sánchez E (2007) Diversidad y estrategias para la conservación de cactáceas en el semidesierto Queretano. *Biodiversitas* 70: 6-9.

Jiménez C., Mandujano M., Eguiarte L. (2006) Are populations of the Candy barrel cactus (*Echinocactus platyacanthus*) in the desert of Tehuacán, Mexico at risk? Population projection matrix and life table response analysis. *Biological Conservation*, Volumen 135, 2, 278–292.

Matos, D. M. S., Freckleton, R. P., & Watkinson, A. R. (1999). *The Role of Density Dependence in the Population Dynamics of a Tropical Palm*. *Ecology*, 80(8), 2635. doi:10.2307/177246

Paredes R., Van Devender, T. & R. S. Felger (2000) Cactáceas de Sonora, México: su Diversidad, Uso y Conservación. IMADES. Arizona-Sonora Desert Museum Press. Tucson Arizona. 141 pp.

Pérez S. (2013) *Viviparidad, germinación y supervivencia de Stenocereus Thurberi (cactacea)*. (Tesis de Maestría). Colegio de Posgraduados. Texcoco, Estado de México.

Savage, J. M. (1982) The Enigma of the Central American Herpetofauna: dispersal or vicariance? *Annals of the Missouri Botanical Garden* 69: 464-547.

Stephenson, N.L. (1990) Climatic Control of Vegetation Distribution: The Role of the Water Balance. *American Naturalist* 135:649-670

Terrazas, T., & Loza Cornejo, S., & Arreola Nava, H. (2005). Anatomía caulinar de las especies del género *stenocereus* (cactaceae). *Acta Botanica Venezuelica*, 28 (2), 321-336.

Thomas, C. D., Ohlemüller, R., Anderson, B., Hickler, T., Miller, P. A., Sykes, M. T., & Williams, J. W. (2008). Exporting the ecological effects of climate change: Developed and developing countries will suffer the consequences of climate change, but differ in both their responsibility and how badly it will affect their ecosystems. *EMBO Reports*, 9(Suppl 1), S28–S33. <http://doi.org/10.1038/embor.2008.42>

EFFECTO DEL CLORHIDRATO DE ZILPATEROL Y VITAMINA D₃ EN OVINOS: CRECIMIENTO, CARACTERÍSTICAS DE CANAL Y CALIDAD DE CARNE

Karla Hildeliza Leyva Medina, Dr. Juan Carlos Robles Estrada, Dr. Horacio Dávila Ramos,
Dr. Jesús José Portillo Loera, Dr. Francisco Gerardo Ríos Rincón

Doctorado en Ciencias Agropecuarias, Colegio de Ciencias Agropecuarias.

leyvamedinakarla@gmail.com

RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto de la vitamina D₃ en dietas con zilpaterol en ovinos. Se utilizaron 32 machos Dorper x Pelibuey (37.3 ± 1.4 kg), en una prueba de 29 días de duración. Con un diseño en bloques completos al azar, los ovinos se alojaron en 16 corraletas, con una dieta a base de maíz quebrado y pasta de soya (13.5 % de proteína cruda y 1.40 Mcal/ENg) con los siguientes tratamientos: T1=sin zilpaterol y sin vitamina D₃, T2=0.20 mg/kg de peso vivo de zilpaterol, T3=1.5 x 10⁶ UI/d vitamina D₃, T4=1.5 x 10⁶ UI/d vitamina D₃ + 0.20 mg/kg de peso vivo de zilpaterol (con 3 días de retiro) y la vitamina D₃ se adiciono los últimos 7 días previos al sacrificio. Respecto a las variables de crecimiento, al utilizar zilpaterol (ZIL vs. ZILVIT) incrementó (P≤0.03) en 16.6% la ganancia diaria de peso y una mejora en el rendimiento de la canal de un 1.72 % (P<0.01). Los resultados de calidad de la carne muestran que la vitamina D₃ presentó 9.65 % mayor luminosidad (P=0.03) con respecto al testigo (T vs. VIT). La fuerza de corte fue mayor (P<0.05) en el tratamiento ZILVIT al compararse con el tratamiento con vitamina D₃ (VIT) en 30 % y 25.7 % con respecto al grupo testigo. Así mismo, la vitamina D₃ aumentó (P=0.03) la proporción de ácidos grasos saturados en 9.5 % y redujo los insaturados en 7.6 % al compararse con el tratamiento testigo. Se concluye que la suplementación de vitamina D₃ en dietas con zilpaterol para ovinos no mejoró la calidad y terneza de la carne, sin embargo, aumentó la proporción de ácidos grasos saturados y redujo los insaturados.

Palabras claves: zilpaterol, vitamina D₃, ovinos.

ABSTRACT

In order to determine the effect of vitamin D₃ in diets with zilpaterol in sheep. 32 Dorper x Pelibuey males (37.3 ± 1.4 kg) were used in a 29-day test. With a randomized complete block design, the sheep were housed in 16 corraletas, with a diet based on broken corn and soybean paste (13.5% crude protein and 1.40 Mcal / ENg) with the following treatments: T1 = without zilpaterol and without vitamin D₃, T2 = 0.20 mg / kg of live weight of zilpaterol, T3 = 1.5 x 10⁶ IU / d of vitamin D₃, T4 = 1.5 x 10⁶ IU / d of vitamin D₃ + 0.20 mg / kg of live weight of zilpaterol (with 3 days of withdrawal) and vitamin D₃ was added during the last 7 days prior to slaughter. Regarding the growth variables, using zilpaterol (ZIL vs. ZILVIT) increased (P≤0.03) by 16.6% the daily weight gain and an improvement in the carcass yield of 1.72% (P <0.01). The results of meat quality show that vitamin D₃ presented 9.65% greater luminosity (P = 0.03) with respect to the control (T vs. VIT). The cutting force was greater (P <0.05) in the ZILVIT treatment when compared to the treatment with

vitamin D3 (VIT) in 30% and 25.7% with respect to the control group. Likewise, vitamin D3 increased ($P = 0.03$) the proportion of saturated fatty acids in 9.5% and reduced the unsaturated ones in 7.6% when compared with the control treatment. It is concluded that the supplementation of vitamin D3 in diets with zilpaterol for sheep did not improve the quality and tenderness of the meat, however, it increased the proportion of saturated fatty acids and reduced the unsaturated ones.

Keywords: zilpaterol, vitamin D3, sheep.

INTRODUCCIÓN

Mejorar la eficiencia del ovino, con el propósito de obtener productos de buena calidad y en el menor tiempo posible, es uno de los retos de la producción ovina, debido a esto, la producción de carne de ovino tiene una tendencia hacia la utilización de sistemas de producción intensiva (Beerman, 2009). Para hacer más eficiente este sistema, los promotores del crecimiento pueden ser utilizados, además algunos de estos compuestos modifican las características de la canal con la intervención de diversos factores de producción, incluyendo al plano nutricional, donde puede influir el contenido y la cantidad de la proteína, el nivel de energía o bien la inclusión de aditivos a la dieta que promuevan la síntesis de proteína muscular o disminuyan la deposición de grasa en los tejidos (Macías *et al.*, 2013). Los β -agonistas son utilizados en la producción de carne de bovino para mejorar el rendimiento en canal, efecto en virtud que fomenta la producción de proteína y reduce la grasa (Walker *et al.*, 2010). Sin embargo, a nivel del consumidor, las características más importantes al comprar un corte de carne fresca incluyen: calidad (sabor, terneza o blandura, apariencia y la estabilidad en el almacenamiento), consistencia (igualdad en apariencia de compra a compra, igualdad en palatabilidad de consumo a consumo), seguridad (bacteriológica y química) y por último, la actitud del distribuidor (productores sobre el ambiente y bienestar animal) (Smith, 2000). El uso de vitamina D₃ diariamente durante los últimos 7 días de alimentación, incrementan las concentraciones de calcio (Ca) y disminuye las de magnesio en plasma (Montgomery, 2000). Al elevarse las concentraciones de Ca y aumentar los depósitos en tejidos blandos, se acelera la activación de las calpaínas, y promueven la terneza de la carne (Korn *et al.*, 2013). Debido a esto, la suplementación oral con altas dosis de vitamina D₃ previo al sacrificio, parece ser una alternativa para mejorar la terneza de la carne.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El clorhidrato de zilpaterol es un compuesto β -adrenérgico que se caracteriza por mejorar el comportamiento productivo y el rendimiento de la canal de rumiantes, sin embargo, algunas características de calidad de la carne como la terneza y el color se ven afectadas negativamente, lo cual tiene un impacto indeseable en el consumidor.

HIPÓTESIS

La suplementación con vitamina D₃ no modifica el comportamiento productivo y características de la canal, sin embargo, minimiza los efectos negativos de la calidad de la carne de ovinos en finalización.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en ovinos en finalización en comportamiento productivo, características de canal y calidad de carne.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue conducido en la unidad experimental de pequeños rumiantes II de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa. La unidad cuenta con 24 corraletas, cada una de ellas con 6 m² de sombra completa, bebedero de llenado manual y un metro de comedero en línea. Antes de iniciar la prueba, los animales fueron tratados contra endoparasitos con triclabendazole 10% y fenbendazole 10 % (Saguaymic plus[®]), 10 mg/kg de PV vía oral. Se les aplicó tratamiento contra Piroplasmosis y Anaplasmosis (Imidox[®] 120), 1.2 mg/kg de PV vía subcutánea y se vacunaron contra Pasteurellosis neumónica (Inmunovac 11 vías), vía subcutánea.

Tratamientos: Para realizar este estudio, se utilizaron 32 ovinos cruce Dorper x Pelibuey con un peso corporal promedio de 37.3 ± 1.4 kg. Los ovinos fueron adaptados a las corraletas y alimentados dos veces por día a las 0900 y 1500 horas hasta alcanzar el peso promedio. Una vez alcanzado el peso los ovinos fueron distribuidos por grupos de peso (bloques completos al azar) en 16 corrales (dos ovinos por corraleta/4 repeticiones por tratamiento), donde a cada corraleta le fue asignado al azar uno de cuatro tratamientos: T1= sin zilpaterol y sin vitamina D₃, T2= 0.20 mg/kg de peso vivo de zilpaterol, T3= 1.5 x 10⁶ UI/d vitamina D₃ T4= 1.5 x 10⁶ UI/d vitamina D₃ + 0.20 mg/kg de peso vivo de zilpaterol, con 3 días de retiro de zilpaterol del alimento antes de finalizar la prueba.**Prueba de comportamiento.** La dieta basal estuvo compuesta (base seca) con 14.5 % de heno de sudan, 66 % de maíz quebrado, 6 % pasta de soya, 1 % urea, 2 % grasa animal, 8 % melaza de caña, 2.5 % agromix ovino, aportando 13.5 % de proteína cruda y 1.40 Mcal de ENg/kg de materia seca. El alimento fue suministrado dos veces por día (0900 y 1500 h) en una proporción aproximada 30:70 respectivamente. Los ovinos se pesaron al día 1 y 29 de la prueba. Se registró el consumo diario de alimento y se recolectaron semanalmente muestras del alimento para determinar el contenido de materia seca (AOAC, 1984). Además se calculó la ganancia diaria de peso y la conversión alimenticia.

Características de canal. De acuerdo a lo establecido en los tratamientos, los ovinos fueron transportados al rastro municipal de Costa Rica, Sinaloa y se registró el peso vivo al sacrificio. Posterior al sacrificio, se registró el peso de la canal caliente y se calculó el rendimiento de la canal.

Energética de la dieta. El consumo esperado de materia seca para cada tratamiento se estimó mediante la siguiente ecuación CMS, kg/d= EM/NE_m+EG/EN_g, donde : EM,

Mcal/d=0.056*PV^{0.75} y EG, Mcal/d=0.276*GDP*PV^{0.75}(NRC, 1985), y las expresiones NE_m y NE_g equivalen a 2.05 y 1.38 Mcal/kg respectivamente y representan los valores de energía de la dieta experimental (NRC, 1985) el coeficiente de 0.276 se estimó asumiendo un peso maduro de 113 kg para machos intactos de la craza Kathadin x Pelibuey (Canton, 2007).

La energía neta observada para la dieta se estimó por medio de la fórmula cuadrática: $x = (-b - \sqrt{b^2 - 4ac}) / 2c$, donde $x = EN_m$ (Mcal/kg), $a = -0,41EM$, $b = 0,877EM + 0,41CMS + EG$, y $c = -0,877 CMS$ (Zinn y Shen, 1998). Donde, $EM=0,056*W^{0.75}$, $EG=0,276*GDP*PV^{0.75}$ y $CMS=$ promedio de consumo de MS, kg/d (NRC, 1985).

Calidad de la carne. Posterior al sacrificio las canales frías fueron trasladadas a la sala de cortes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Autónoma de Sinaloa. Aleatoriamente se seleccionó una media canal izquierda por cada corral, así mismo se obtuvo el músculo *Longissimus dorsi*. Cada una de las 16 muestras del *Longissimus* fue dividida en dos partes de aproximadamente 100 y 500 g, las cuales fueron empacadas al alto vacío y congeladas a -20 °C para su posterior envío y análisis de calidad de la carne.

Análisis estadístico. A los resultados obtenidos en el experimento se les realizó un análisis de la varianza para un diseño en bloques completos al azar.

El análisis del experimento se realizó con el procedimiento MIXED de SAS (SAS Inst. Inc. Cary, NC, 2004) con el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + T_j + e_{ijk}$$

Dónde:

Y= Valor observado

μ = Media general

B = Efecto del Bloque

T= Efecto fijo de tratamientos

e= Variación residual

(Martínez, 1988).

Se utilizaron los siguientes contrastes: T vs. ZIL, ZIL vs. VIT y ZIL vs. ZILVIT. Se utilizó diferencia de medias por Tukey-Kramer. Para determinar diferencias entre tratamientos se usó un nivel de significancia de $\alpha \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en el comportamiento productivo de ovinos en finalización se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en el comportamiento productivo de ovinos en finalización.

Tratamientos ¹	Valor de P
---------------------------	------------

Variables ^{2,3}					EEM			
	T	ZIL	VIT	ZILVI T		T vs. ZIL	ZIL vs. VIT	ZIL vs. ZILVIT
Días de prueba	29	29	29	29				
Repeticiones	4	4	4	4				
Peso inicial, kg	37.25	37.16	37.40	37.49	1.43 1	0.87	0.66	0.55
Peso final, kg	45.19	45.03	44.33	44.03	1.50 9	0.87	0.47	0.31
Consumo, kg/d	1.29	1.20	1.32	1.27	0.04 4	0.14	0.07	0.22
Ganancia, g/d	273	271	239	226	0.00 8	0.91	0.11	0.03
Ganancia total, kg	7.93	7.87	6.93	6.54	0.23 0	0.90	0.11	0.03
Consumo/gdp, kg	4.72b	4.39b	5.59 ^a	5.64a	0.20 7	0.24	<0.01	<0.01
Ganancia/gdp, g	215 ^a	229 ^a	183 ^b	179 ^b	0.00 8	0.07	<0.01	<0.01
PCC, kg	24.63	25.26	24.95	24.80	0.91 9	0.24	0.54	0.38
Rendimiento en canal, %	54.42 ^b	56.14 ^a	56.22 ^a	56.20 ^a	0.33 6	<0.01	0.88	0.91

¹T= Testigo, ZIL= Zilpaterol, VIT= Vitamina D₃, EEM= Error Estándar de la Media,² gdp = Ganancia diaria de peso, PCC=Peso de la canal caliente, ³Letras diferentes en la misma línea (Tukey-Kramer, P ≤0.05).

Al utilizar clorhidrato de zilpaterol solo en la dieta (ZIL vs. ZIL+VIT) incrementó (P≤0.03) en 16.6% la ganancia diaria de peso y se vio reflejado en un 16.8 % en la ganancia total. De igual manera mejoró en 28.4 % la conversión de alimento y en 21.8 % la eficiencia alimenticia (P<0.01). Así mismo al compararlo con el tratamiento que contenía vitamina D₃ (ZIL vs. VIT) se obtuvo mejor conversión y mayor eficiencia del alimento (P≤0.01). Además al comparar T vs. ZIL, se observa una mejora en el rendimiento de la canal al utilizar clorhidrato de zilpaterol de un 1.72 % (P<0.01). El aumento del rendimiento de la canal ha

sido una respuesta consistente con la suplementación del clorhidrato de zilpaterol en ganado (Plascencia, 2008). Esto debido al aumento en la síntesis de proteína muscular o disminución de la degradación de proteína, dando como resultado el aumento de la proteína total de la canal y canales más pesadas (Beer mann, 2002). Se puede observar que los tratamientos con vitamina D₃, obtienen conversiones muy altas comparadas con el resto de los tratamientos, por lo tanto eficiencias muy bajas. Mientras que para la variable de rendimiento en canal no se encuentran diferencias entre los tratamientos con vitamina D₃ y zilpaterol respecto al grupo testigo. Se han reportado que al utilizar dosis de 5 y 6 millones de UI/d, han provocado descenso en el consumo y ganancias diarias de peso en los animales (Montgomery, 2000), por lo tanto altas dosis de vitamina D₃, tiene un efecto negativo en la ingesta de alimento lo cual repercute en la ganancia diaria de peso, peso final y peso canal caliente (Karges, 2001; Reiling y Johnson, 2003), estos efectos podrían estar relacionados con los residuos de vitaminas en el hígado, riñones y musculo (Montgomery, 2000; Foote, 2004).

Los resultados del comportamiento productivo con ajuste por rendimiento de la canal se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en el comportamiento productivo con ajuste por rendimiento de la canal de ovinos en finalización.

Variables ^{2,3}	Tratamientos ¹					Valor de P		
	T	ZIL	VIT	ZILVIT	EEM	T vs. ZIL	ZIL vs. VIT	ZIL vs. ZILVIT
PF ajustado, kg	44.1 9	45.32	44.75	44.48	1.64 9	0.24	0.54	0.38
GDP ajustada, g	240	282	254	241	0.01 2	0.04	0.16	0.05
Ganancia total ajustada, kg	6.94	8.16	7.35	7.00	0.34 1	0.04	0.15	0.05
CA ajustada, kg	5.57 ^a	4.30 ^b	5.60 ^a	5.44 ^{ab}	0.24 8	<0.0 1	<0.01	0.01
EA ajustada, g	186 ^b	237 ^a	193 ^b	189 ^b	0.00 8	<0.0 1	<0.01	<0.01

¹T= Testigo, ZIL= Zilpaterol, VIT= Vitamina D₃, EEM= Error Estándar de la Media, ²PF= Peso final, GDP= Ganancia diaria de peso, CA= Conversión alimenticia, EA= Eficiencia alimenticia, ³

Letras diferentes en la misma línea (Tukey-Kramer, $P \leq 0.05$).

El comportamiento productivo también puede ser estimado si se considera el rendimiento promedio de la canal de todos los tratamientos, estimando el peso final ajustado a la canal, esto brinda una respuesta de acuerdo a la ganancia observada por el mejoramiento del peso de la canal, en vez del peso vivo, el cual además de la canal posee otros componentes como vísceras, piel y otros tejidos que pueden alterar la ganancia real (Núñez *et al.*, 2005). Se ratifica al hacer el ajuste la respuesta al utilizar clorhidrato de zilpaterol (T vs. ZIL) para las variables: ganancia diaria de peso y ganancia total ($P=0.04$, así mismo para las variables de conversión de alimento y eficiencia alimenticia ($P<0.01$), en todos los contrastes analizados. Mientras que al comparar ZIL vs. ZIL+VIT, se puede observar que el efecto del clorhidrato de zilpaterol se ve afectado al utilizarlo con la vitamina D₃, para la ganancia diaria de peso y ganancia total ($P=0.05$), así mismo para la conversión de alimento y eficiencia alimenticia ($P=0.01$ y $P<0.01$, respectivamente).

En el cuadro 3 se muestran los efectos del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en el consumo de alimento y la energía de la dieta (observado/esperado) de ovinos en finalización.

Cuadro 3. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en el consumo de alimento y la energía de la dieta (observado/esperado) de ovinos en finalización.

Variables ^{2,3}	Tratamientos ¹				EEM	Valor de P		
	T	ZIL	VIT	ZILVIT		T vs. ZIL	ZIL vs. VIT	ZIL vs. ZILVIT
Obs / esp CMS	1.00 ^b	0.93 ^b	1.13 ^a	1.13 ^a	0.02 5	0.07	<0.01	<0.01
EN dieta (Mcal/kg)								
Mantenimiento	2.09 ^a	2.22 ^a	1.90 ^b	1.90 ^b	0.03 9	0.02	<0.01	<0.01
Ganancia	1.43 ^a	1.54 ^a	1.26 ^b	1.27 ^b	0.03 4	0.01	<0.01	<0.01
Obs / esp EN								
Mantenimiento	1.00 ^a	1.07 ^a	0.90 ^b	0.91 ^b	0.01 9	0.02	<0.01	<0.01
Ganancia	1.00 ^a	1.06 ^a	0.89 ^b	0.88 ^b	0.02	0.01	<0.01	<0.01

¹T= Testigo, ZIL= Zilpaterol, VIT= Vitamina D₃, EEM= Error Estándar de la Media, ²EN= Energía neta, CMS=Consumo de materia seca ³Letras diferentes en la misma línea (Tukey-Kramer, P ≤0.05).

Lo obs/esp de CMS, para los tratamientos con vitamina D₃ (ZIL vs. VIT) y (ZIL vs. ZIL+VIT), se observaron valores por arriba de 1.00 (1.13), lo cual significa menor retención de energía por unidad de materia seca consumida por lo tanto, mayor cantidad de unidades de materia seca requeridas para un rendimiento productivo dado. Mientras que para el tratamiento con clorhidrato de zilpaterol, se obtuvo coeficiente de (0.93), lo cual significa que se obtuvo mayor retención de energía, lo cual afirma la eficacia de este promotor del crecimiento como repartidor de energía (Domínguez *et al.*, 2009). También para lo obs/espe EN de mantenimiento y de ganancia, se observan coeficientes por debajo de 1.00 para los tratamientos con vitamina D₃, lo cual indica que existió una deficiencia en la utilización de la energía neta que teóricamente contenía la dieta. Caso contrario al tratamiento que contenía clorhidrato de zilpaterol, que se obtuvo valor por arriba de 1.00, lo cual indica que existió una mayor eficiencia en la utilización de la energía neta de la dieta. La relación de consumo observado vs. esperado revela diferencias en la eficiencia con independencia de la ganancia de peso, proporcionando información importante sobre los posibles efectos del tratamiento sobre la eficiencia de utilización de la energía de la dieta en sí, y son una aplicación importante y práctica que contemplan las normas actuales de la energética en la investigación nutricional (Zinn *et al.*, 2008).

Las características de la canal de ovinos en finalización se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en las características de la canal de ovinos en finalización.

Variables ^{2,3}	Tratamientos ¹				EEM	Valor de P		
	T	ZIL	VIT	ZILVI T		T vs. ZIL	T vs. VIT	ZIL vs. ZILVIT
PCC, kg	24.70	25.40	24.88	24.66	0.91	0.02	0.50	0.02
Rendimiento en canal, %	54.42 a	56.14 b	56.21 b	56.19 b	0.33	0.01	0.01	0.93
AOC, cm ²	13.74	14.33	13.64	13.77	0.31	0.31	0.85	0.33
EGD, mm	2.56	2.36	2.64	2.52	0.05	0.26	0.62	0.36
GRP, %	2.93	2.79	2.79	2.53	0.12	0.71	0.73	0.48

¹T= Testigo, ZIL= Zilpaterol, VIT= Vitamina D₃, EEM= Error Estándar de la Media,² PCC=Peso de la canal caliente, AOC= Área del ojo de la costilla, EGD= Espesor de grasa dorsal, GRP= Grasa de riñón y pelvis ³Letras diferentes en la misma línea (Tukey-Kramer, P ≤0.05).

La inclusión de clorhidrato de zilpaterol (T vs ZIL), modificó positivamente el peso de la canal caliente (P=0.02) y rendimiento de la canal (P=0.01), obteniendo un aumento de 2.83 y 1.72 % respectivamente.

Al adicionar la vitamina D₃ (T vs VIT), se encontró un aumento en el rendimiento en canal (P=0.01) del 1.79 %, respecto al grupo testigo. Sin embargo, al utilizar ambos aditivos en la dieta (ZIL vs ZILVIT), para la variable de peso de la canal caliente, disminuyó (P=0.02) un 2.9 %, al compararse con el tratamiento solo con zilpaterol. Sin encontrar diferencias estadísticas para el resto de las variables (P>0.26) en ninguno de los contrastes.

En el cuadro 5 se muestran los resultados sobre las características de calidad de la carne en ovinos administrados con el agonista adrenérgico β₂ clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃.

Cuadro 5. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en las características de calidad de la carne en ovinos en finalización.

Variables ^{2,3}	Tratamientos ¹					Valor de P		
	T	ZIL	VIT	ZILVIT	EEM	T vs. ZIL	T vs. VIT	ZIL vs. ZILVIT
Color								
L*	31.80 ^{ab}	30.05 ^b	34.87 ^a	31.94 ^{ab}	0.54	0.21	0.03	0.17
a*	16.45	14.34	15.36	16.80	0.39	0.05	0.32	0.02
b*	13.60	11.51	14.56	14.82	0.48	0.11	0.45	0.01
pH	5.56 ^b	5.86 ^a	5.62 ^b	5.59 ^b	0.02	<0.01	0.29	<0.01
Warner Bratzler, kg	2.45 ^b	2.78 ^{ab}	2.36 ^b	3.08 ^a	0.08	0.07	0.62	0.10
Retención agua, %	88.45 ^a	85.49 ^{ab}	86.01 ^{ab}	82.86 ^b	0.54	0.02	0.05	0.03
Pérdida agua, %	11.54 ^a	14.50 ^{ab}	13.98 ^{ab}	17.13 ^b	0.54	0.02	0.05	0.03

¹T= Testigo, ZIL= Zilpaterol, VIT= Vitamina D₃, EEM= Error Estándar de la Media,

²L*=Luminosidad, a*= índice de rojo, b*= índice de amarillo. ³Letras diferentes en la misma

línea (Tukey-Kramer, $P \leq 0.05$).

En la calidad de la carne, en el presente experimento en la variable de color, se observó que el tratamiento con vitamina D₃ presentó 9.65 % mayor intensidad en el valor de L* ($P=0.03$) con respecto al testigo (T vs. VIT); el resto de los tratamientos no mostraron diferencias ($P > 0.17$) para esta variable. La intensidad del color rojo (a*) fue menor ($P \leq 0.05$) en el tratamiento con clorhidrato de zilpaterol (ZIL) en un 12.8 % cuando se comparó con el tratamiento testigo (T vs. ZIL) y un 14.6 % cuando fue comparado con el tratamiento que contiene ambos aditivos (ZIL vs. ZIL+VIT), sin embargo, la adición de vitamina D₃ (VIT) no fue diferente con respecto al resto de los tratamientos ($P=0.35$). Los valores mayores de fuerza al corte (Warner Bratzler) se mostraron en el tratamiento mixto (ZIL+VIT) al compararse con el tratamiento con vitamina D₃ (VIT) en 30 % ($P < 0.05$) y con respecto al grupo testigo en un 25.7 % ($P < 0.05$), sin mostrar diferencias al contrastarse con el tratamiento ZIL ($P=0.10$). La retención de agua en el tratamiento testigo (T) se incrementó en 2.9 % ($P=0.02$) al compararse con el grupo de clorhidrato de zilpaterol (T vs. ZIL) y un 5.5 % con respecto al tratamiento mixto (ZIL+VIT), así mismo el clorhidrato de zilpaterol mostró 2.6 % mayor retención ($P=0.03$) comparado con el tratamiento mixto (ZIL vs. ZIL+VIT).

Los resultados del presente experimento coinciden parcialmente con múltiples investigaciones con respecto a la reducción del color rojo (a*) y no presentar cambios en la luminosidad (L*) de las muestras de carne de ovinos tratados con zilpaterol. Al respecto Hilton *et al.* (2009) mencionan que una reducción en la oximioglobina y metamioglobina está relacionada con la reducción del color rojo del músculo. Estudios en bovinos han demostrado que el clorhidrato de zilpaterol al compararse con los no tratados reduce la intensidad de rojo (a*) en 7 a 12 % y del amarillo (b*) en 5.36 % en el músculo *Longissimus* (Hope-Jones *et al.*, 2012 y Hilton *et al.*, 2009).

La disminución de la intensidad del color rojo también puede explicarse por el cambio hacia mayores tipos de fibras glicolíticas (blancas) y la hipertrofia de estas fibras causados por los tratamientos con β -agonistas adrenérgicos (González *et al.*, 2009; Strydom *et al.*, 2009) reduciendo la concentración del pigmento hierro-hemo y por lo tanto da lugar a carne pálida (Geesink *et al.*, 1993).

Los resultados de la inclusión de vitamina D₃ en la calidad de la carne de bovinos son variables, algunos autores (Rodríguez *et al.*, 2013) no encontraron diferencia en el valor de los indicadores L*, a* y b* para los tratamientos con vitamina D₃ (7.5×10^6 UI⁻¹) comparados con el grupo testigo. Sin embargo, otros autores (Rafalska, 2017) muestran resultados donde la luminosidad se aumenta en 5.9 %, sin mostrar cambios en otras características (a*, b*); otras investigaciones (Lobo-jr *et al.*, 2012) muestran resultados donde se aumenta el rojo (a*) en 9.6 % y el amarillo (b*) en 32.3 %, sin mostrar cambios en luminosidad.

Uno de los efectos secundarios negativos del uso de clorhidrato de zilpaterol es un aumento de la dureza de la carne, el cual, es más consistente en bovinos (Hilton *et al.*, 2009; Avendaño-Reyes *et al.*, 2006; Knobel-Graves *et al.*, 2016). Otros autores no observaron respuestas significativas en ovinos (Casaya *et al.* 2011; Ríos *et al.* 2008 y López-Carlos *et al.* 2010). La vitamina D₃ ha demostrado mejorar la ternura de la carne al ser suplementada

en muy altas dosis previo al sacrificio (Montgomery *et al.*, 2000; Montgomery *et al.*, 2004; Rider *et al.*, 2004 y Wiegand *et al.*, 2001). Por tal razón algunos experimentos se han diseñado para determinar el efecto de la suplementación de vitamina D₃ en la terneza de la carne de bovinos suplementados con el clorhidrato de zilpaterol. En el presente experimento el esfuerzo al corte fue incrementado con la inclusión de vitamina D₃ en los animales tratados con clorhidrato de zilpaterol (ZIL+VIT), lo cual coincide con lo referido por Korn *et al.* (2013) quienes mostraron resultados de un incremento en el esfuerzo al corte (Warner Bratzler) con dosis de 250,000 UI⁻¹ durante 21 días. Sin embargo, otros autores (Strydom *et al.*, 2011) encontraron ligeras mejoras en la suavidad de la carne al utilizar dosis muy altas (7x10⁶ UI⁻¹) durante 3 días, finalmente otras investigaciones (Hansen *et al.*, 2011) no encontraron diferencias estadísticas en la terneza de la carne por el uso de la vitamina D₃. Los resultados de los efectos del suministro de clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en la proporción de ácidos grasos de grasa intramuscular de ovinos se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6. Efecto del clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ en el perfil de ácidos grasos de grasa intramuscular en ovinos en finalización.

Ácidos grasos, % ²	Tratamientos ¹				EEM	Valor de P		
	T	ZIL	VIT	ZILVIT		T vs. ZIL	T vs. VIT	ZIL vs. ZILVIT
Mirístico	3.92	3.27	4.34	2.79	0.358	0.53	0.69	0.65
Miristoléico	0.262	0.24	0.35	0.16	0.039	0.89	0.42	0.49
Palmítico	29.49	29.35	32.59	30.05	0.598	0.92	0.07	0.65
Palmitoléico	2.22	1.96	2.41	1.76	0.131	0.49	0.01	0.57
Esteárico	11.05	12.88	11.76	12.33	0.846	0.13	0.54	0.63
Oléico	49.56	47.42	43.02	48.34	0.953	0.35	0.01	0.68
Linoléico	3.18	4.61	5.05	4.34	0.484	0.33	0.21	0.85
Linolénico	0.29	0.24	0.16	0.11	0.033	0.62	0.16	0.15
Araquidónico	0.00	0.00	0.29	0.08	0.075	1.00	0.19	0.70
Saturados	44.47	45.50	48.70	45.18	0.708	0.57	0.03	0.86
Insaturados	55.52	54.50	51.29	54.81	0.708	0.57	0.03	0.86
Insat/satur	1.25	1.20	1.05	1.21	0.033	0.52	0.03	0.86

¹T= Testigo, ZIL= Zilpaterol, VIT= Vitamina D₃, EEM= Error Estándar de la Media, ²Letras

diferentes en la misma línea indican diferencias entre tratamientos (Tukey-Kramer, $P \leq 0.05$)

La inclusión del clorhidrato de zilpaterol no afectó la proporción de ningún ácido graso al compararse con el grupo testigo ($P \geq 0.13$), tampoco al contrastarse con los ovinos tratados con clorhidrato de zilpaterol y vitamina D₃ (ZIL+VIT; $P=0.15$). La inclusión de vitamina D₃ ($P=0.07$) parece aumentar en 10.5 % la proporción del ácido graso palmítico, además aumentó 8.5 % el ácido graso palmitoleico ($P=0.01$) y redujo en 13.2 % el ácido graso oleico ($P=0.01$) al compararse con el grupo testigo. Así mismo la inclusión de vitamina D₃ muestra diferencias en el porcentaje total de ácidos grasos saturados e insaturados ($P=0.03$) aumentando la proporción de saturados en 9.5 % y reduciendo los insaturados en 7.6 % al compararse con los animales no tratados (T vs. VIT).

Los resultados del uso de β -agonistas adrenérgicos en el perfil de ácidos grasos no muestran tendencias claras con respecto al cambio entre ácidos grasos saturados e insaturados, pues los resultados son variados y contradictorios. Webb y Casey (1994) encontraron una reducción en el ácido graso palmítico (C16:0) de grasa subcutánea al suplementar un β -agonista adrenérgico, sin afectar el resto de los ácidos grasos. Una reducción del 19 % del ácido graso esteárico por el uso de salbutamol en grasa intramuscular del músculo *Longissimus* fue publicado, además el total de ácidos grasos poliinsaturados de grasa intramuscular del músculo fueron mayores y menor proporción del total de ácidos grasos saturados (Sota *et al.*, 1995). Los cambios en las proporciones de los ácidos grasos de la grasa del músculo están presuntamente relacionados con el incremento de la tasa de lipólisis con la consecuente liberación de ácidos grasos posterior a la administración de β -agonistas adrenérgicos (Johnson *et al.*, 2014). Sin embargo, en el estudio presente no se observó un efecto de la suplementación del clorhidrato de zilpaterol solo o combinado con vitamina D₃ al compararse con el grupo testigo.

CONCLUSIONES

Los resultados no muestran los efectos benéficos de la adición de zilpaterol para las variables de comportamiento productivo y energética de la dieta, sin embargo, la adición de vitamina D₃ muestra conversiones muy altas, por lo tanto eficiencias muy bajas y menor retención de energía por unidad de materia seca consumida. Para las variables de calidad de la carne, no mejoró las características de calidad y terneza de la carne, sin embargo, aumento la proporción de ácidos grasos saturados y redujo los insaturados.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- Avendaño-Reyes, L.; V. Torres-Rodríguez, F. J. Meraz-Muriño, C. Perez-Linarez, F. Figueroa-Saavedra and P. H. Robinson. 2006. Effects of two Beta-adrenergic agonist on

finish performance, carcass characteristics, and meet quality of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 84:3259-3265. . ISSN: 0021-8812, doi:10.2527/jas.2006-173.

Boleman, C.T., D.R. McKenna, W.S. Ramsey, R.K. Peel and J.W. Savell. 2004. Influence of feeding vitamin D₃ and aging on the tenderness of four lamb muscle. *C.T. Meat Sci.* 67:185–190 . ISSN: 0309-1740. doi:10.1016/j.meatsci.2003.09.010.

Claus, H. C., M. E. Dikeman, L. Murray, J. C. Brooks, J. Shook, G. G. Hilton, T. E. Lawrence, J. M. Mehaffey, B. J. Johnson, D. M. Allen, M. Streeter, W. T. Nichols, J. P. Hutcheson, D. A. Yates, M. F. Miller, M. C. Hunt, and J. Killefer. 2010. Effects of supplementing feedlot steers and heifers with zilpaterol hydrochloride on Warner-Bratzler shear force interrelationships of steer and heifer longissimus lumborum and heifer triceps brachii and gluteus medius muscles aged for 7, 14 and 21 days. *Meat Sci.* 85:347-355. ISSN: 0309-1740. doi:10.1016/j.meatsci.2010.02.002.

Foote, M. R., R. L. Horst, E. J. Huff-Lonergan, A. H. Trenkle, F. C. Parrish, Jr., and D. C. Beitz. 2004. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 82:242-249. ISSN: 0021-8812, <https://pdfs.semanticscholar.org/d633/4797389927fb01e7dcdcf51ed6f2f9fbd4d6.pdf>.

Garmyn, A. J., S. M. Knobel, K. S. Spivey, L. F. Hightower, J. C. Brooks, B. J. Johnson, S. L. Parr, R. J. Rathmann, J. D. Starkey, D. A. Yates, J. M. Hodgen, J. P. Hutcheson, and M. F. Miller. 2011. Warner-Bratzler and slice shear force measurements of 3 beef muscles in response to various aging periods after trenbolone acetate and estradiol implants and zilpaterol hydrochloride supplementation of finishing beef steers. *J. Anim. Sci.* 89:3783–3791. . ISSN: 0021-8812, doi:10.2527/jas.2011-4134.

Hilton, G. G., J. L. Montgomery, C. R. Krehbiel, D. A. Yates, J. P. Hutcheson, W. T. Nichols, M. N. Streeter, J. R. Blanton, Jr. and M. F. Miller. 2009. Effect of feeding zilpaterol hydrochloride with and without monensin and tylosin on carcass cutability and meat palatability of beef steers. *J. Anim Sci.* 87:1394-1406. . ISSN: 0021-8812, doi:10.2527/jas.2008-1170.

Hansen, S., L. Frylinck, P. E. Strydom. 2011. The effect of vitamin D₃ supplementation on texture and oxidative stability of beef loins from steers treated with zilpaterol hydrochloride. *Meat. Sci.* 90:145–151. ISSN: 0309-1740. doi:10.1016/j.meatsci.2011.06.014.

Knobel-Graves, S. M., J. C. Brooks, B. J. Johnson, J. D. Starkey, J. L. Beckett, J. M. Hodgen, J. P. Hutcheson, M. N. Streeter, C. L. Thomas, R. J. Rathmann, A. J. Garmyn, and M. F. Miller. 2016. Effect of vitamin D₃, zilpaterol hydrochloride supplementation, and postmortem aging on shear force measurements of three muscles in finishing beef steers. *J. Anim. Sci.* 94:2637–2647. . ISSN: 0021-8812, doi:10.2527/jas2015-0121.

Korn, K. T., R. P. Lemenager, M. C. Claeys, M. Engstrom, and J. P. Schoonmaker. 2013. Supplemental vitamin D₃ and zilpaterol hydrochloride. I. Effect on performance, carcass traits, tenderness, vitamin D metabolites of feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 91:3322–3331. ISSN: 0021-8812, doi: 10.2527/jas.2012-5960.

- Macías, U.C., F. D. Álvarez, S. A. Soto, E. Águila y L. Avendaño. 2013. Effect of zilpaterol hydrochloride on feedlot performance, nutrient intake, and digestibility in hair-breed sheep. 91:1844-1849. *J ANIM SCI*. ISSN: 0021-8812. doi: 10.2527/jas.2011-4911.
- Martínez, G.A. 1988. Diseños experimentales: métodos y elementos de teoría. Ed. Trillas. D.F., México.
- NRC. 1985. Nutrient requirement of sheep. (6th Rev. Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- Plascencia, A., N.O. Torrentera y R.A. Zinn. 2008. Influence of the B-agonist, zilpaterol, on growth performance and carcass characteristics of feedlot steers. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. ISSN: **1680-5593**.
<http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2008/1257-1260.pdf>.
- SAS. 2004. SAS/STAT, Guide for personal computer (release 9.2). Cary, NC, USA: SAS Inst. Inc.
- Strydom, P. E., L. Frylinck, J. L. Montgomery and M. F. Smith. 2009. The comparison of three beta-agonists for growth performance, carcass characteristics and meat quality of feedlot cattle. *Meat Sci*. 81:557–564. ISSN: 0309-1740. doi:10.1016/j.meatsci.2008.10.011
- Strydom, P. E., M. Hope-Jones, L. Frylinck and E. C. Webb. 2011. The effects of a beta-agonist treatment, Vitamin D₃ supplementation and electrical stimulation on meat quality of feedlot steers. *Meat Sci*. 89:462–468. ISSN: 0309-1740. doi:10.1016/j.meatsci.2011.05.012.
- Zinn RA, Shen Y. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J Anim Sci*, 76: 1280-1289 ISSN: 0021-8812 <https://doi.org/10.2527/1998.7651280x>

EFFECTO DE SILICIO Y CLORO EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS, RENDIMIENTO Y CALIDAD POSTCOSECHA DE TOMATE F₃ Luz Llarelly Cázarez Flores

EFFECT OF SILICON AND CHLORINE ON TOMATO PLANT GROWTH, PERFORMANCE AND POST-HARVEST QUALITY F₃

Luz Llarelly Cázarez Flores*, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz, Leopoldo Partida Ruvalcaba, Felipe Ayala Tafoya, Tomas Díaz Valdez

Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, km 17.5 Carretera Culiacán-Eldorado. Apdo. Postal 726, Culiacán, Sinaloa. México. Tel. 01 (667) 4 77 41 22. *Autor para correspondencia:

llare_luz@hotmail.com

RESUMEN

Esta investigación se realizó para dilucidar el efecto que ocasiona el silicio, cloro o la combinación de ambos en crecimiento, rendimiento y calidad postcosecha de tomate F₃. En un experimento se sembró tomate F₃, en charolas de poliestireno rellenas con peat moss en casa sombra y se fertilizaron con 1.0 g de N L⁻¹ y fertilizante foliar (Micro min 20-30-10). En otro experimento con plantas de tomate sembradas en un suelo vertisol crómico bajo casa sombra, la separación entre plantas fue de 25 cm y camas con separación de 1.6 m entre sí, con sistema de riego por goteo. Para ambos experimentos se utilizó el diseño experimental de bloques completos al azar, donde los tratamientos fueron: 20, 30 y 50 mg de Si o Cl y las relaciones v/v de 20:20, 30:30 y 50:50 mg de Si:Cl L⁻¹, más el testigo. Las variables de estudio fueron: verdor, altura, área foliar, peso seco de la parte aérea, peso seco de raíz en plántulas, así como verdor, altura, área foliar, rendimiento y calidad postcosecha en plantas de tomate. Silicio y Cloro en dosis de 20, 30 y 50 mg L⁻¹ fueron eficaces para incrementar el crecimiento de plántulas, pero cuando se aplicó a través del riego por goteo en plantas con cinco hojas verdaderas, los efectos fueron menores y contrarios a los que se observaron en las plantas testigos. En cambio las dosis más adecuadas para incrementar ° Brix fueron Si y Cl en dosis de 20, 30 y 50 mg L⁻¹, respectivamente, en relación al testigo.

Palabras clave: *Casa sombra, suelo vertisol, altura, área foliar, peso seco de hojas y raíces.*

ABSTRACT

This research was carried out to elucidate the effect caused by silicon, chlorine or the combination of both in growth, yield and post-harvest quality of tomato F₃. In one experiment, F₃ tomato was planted in polystyrene trays filled with peat moss in the shade house and fertilized with 1.0 g of N L⁻¹ and foliar fertilizer (Micro min 20-30-10). In another experiment with tomato plants planted in a chromic vertisol soil under a shade house, the separation

between plants was 25 cm and beds with a separation of 1.6 m from each other, with a drip irrigation system. For both experiments, the experimental design of randomized complete blocks was used, where the treatments were: 20, 30 and 50 mg of Si or Cl and the v / v ratios of 20:20, 30:30 and 50:50 mg of Si : Cl L⁻¹, plus the witness. The study variables were: greenness, height, leaf area, dry weight of the aerial part, root dry weight in seedlings, as well as greenery, height, leaf area, yield and post-harvest quality in tomato plants. Silicon and chlorine in doses of 20, 30 and 50 mg L⁻¹ were effective to increase the growth of seedlings, but when applied through drip irrigation in plants with five true leaves, the effects were minor and contrary to those were observed in the control plants. On the other hand, the most adequate doses to increase ° Brix were Si and Cl in doses of 20, 30 and 50 mg L⁻¹, respectively, in relation to the control.

Index words: *Shaded house, vertisol soil, height, foliar area, dry weight of leaves and roots.*

INTRODUCCIÓN

En México, entre 2013 y 2016, la producción de tomate aumentó en 35%, al pasar de 2, 052 000 t a 2, 769 000 t. Lo anterior representa un aumento en el volumen nacional en cuatro años de alrededor de 717 000 t, las cuales son distribuidas en los mercados nacional e internacional. El tomate es un cultivo que se desarrolla en todas las entidades del país, las cinco principales son Sinaloa, San Luis Potosí, Baja California, Zacatecas y Michoacán, en conjunto, estos estados aportan el 52 por ciento del volumen nacional, Sinaloa es el principal productor, con 551 000 t (SAGARPA, 2017).

En la horticultura existe una tendencia a satisfacer la demanda local e internacional, esta tendencia conduce, en muchos casos, a un uso poco eficiente de los recursos naturales, entre ellos el agua y los nutrimentos (Preciado *et al.*, 2006). Aunado a lo anterior, los nutrientes que se encuentran en el sistema suelo-plantas pueden ser: a) esenciales: sin ellos la planta no vive; b) benéficos: con ellos aumenta el crecimiento y la producción en situaciones particulares o la tolerancia a condiciones desfavorables del medio, pero la planta puede vivir sin ellos c) tóxicos: con ellos disminuye su crecimiento y producción, pero también puede provocar la muerte. Cabe aclarar que todo elemento es potencialmente tóxico en altas concentraciones. Los elementos categorizados como tóxicos, lo son inclusive a muy bajas concentraciones (Malavolta *et al.*, 1997).

El Silicio (Si) normalmente no es considerado como un elemento esencial en la nutrición de las plantas, sin embargo, diversos estudios han mostrado que puede influir en forma positiva en el crecimiento y rendimiento de las plantas (Balakhnina y Borkowska, 2013; Epstein, 2009; Mitani y Ma, 2005). El Si se ha utilizado para mejorar el crecimiento y rendimiento de plantas, particularmente bajo condiciones de estrés, así también con diferentes respuestas fisiológicas como son: mejoramiento en el balance de nutrientes, reducción de la toxicidad de minerales, incremento en las propiedades mecánicas de los tejidos vegetales y un

aumento en la resistencia a diversos factores abióticos y bióticos (Balakhnina y Borkowska, 2013).

Los efectos directos del Si se acompañan de varios efectos indirectos, como el aumento de la capacidad fotosintética, la reducción de las tasas transpiratorias, el mayor crecimiento de las plantas y el aumento de la resistencia mecánica de las células (Valente *et al.*, 2004). Los efectos benéficos de este elemento son importantes en el manejo de la fertilidad para el cultivo de *Avena sativa*, los cuales se observan en la mejor asimilación y transformación eficiente de nutrientes del suelo (incrementos en materia seca aérea, materia seca de raíz y altura) (Borda *et al.*, 2007). Por lo anterior el objetivo de la investigación fue determinar el efecto que ocasionan el silicio, cloro o la aplicación de ambos elementos, así como cuál o cuáles son las dosis más eficaces en el crecimiento de plántulas, rendimiento y calidad postcosecha del cultivo de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada a 24° 37' 29" LN y 107° 26' 36" LO, en Sinaloa, México. Durante el ciclo agrícola otoño-invierno 2016-2017.

Primer experimento

La siembra se realizó el 12 de octubre de 2016 en charolas de poliestireno con 242 cavidades rellenas de peat moss, se utilizó tomate F₃ y se depositó una semilla por cavidad. Las plántulas se regaron con la frecuencia necesaria y se fertilizaron con 1.0 g de N L⁻¹ tomado de urea. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y diez tratamientos: 20, 30 y 50 mg de Si L⁻¹, 20, 30 y 50 mg de Cl L⁻¹, 20:20, 30:30 y 50:50 mg v/v de Si:Cl L⁻¹, más el testigo fertilizado sólo con N y fertilizante foliar (Micro min 20-30-10). Las dosis se aplicaron mediante el riego por decantación manual sobre la superficie del sustrato contenido en las charolas de poliestireno, ésta se realizó sólo una vez cuando las plántulas tuvieron bien definida la primera hoja verdadera. En las plántulas testigo sólo se utilizó agua. A los 15 días después de la aplicación de los tratamientos, se evaluó el verdor con un Spad 502 en la parte media de una hoja de cada planta, en una muestra de 20 plantas seleccionadas al azar. La altura de plántulas se midió con una regla de 30 cm, desde la base del tallo hasta la yema apical de la misma. El área foliar se determinó con una cinta métrica, al medir largo y ancho de la primera hoja verdadera, y se utilizó la fórmula = $0.35 \cdot L^2 - 5.31 \cdot L + 57.6$ propuesta por de Blanco y Folegatti, (2003). El peso de materia seca de raíz y parte aérea de las plántulas se hizo después del secado en estufa a 70 °C durante (72 h), con báscula de precisión.

Segundo experimento

Se sembró tomate F₃ bajo condiciones de casa sombra en noviembre de 2016, en un suelo vertisol crómico. La separación entre plantas fue de 25 cm. Las parcelas experimentales

constaron de dos surcos de 32 m de largo, con separación de 1.6 m entre surcos, se utilizó el sistema de riego por goteo. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y nueve tratamientos: 20, 30 y 50 mg de Si L⁻¹, 20, 30 y 50 mg de Cl L⁻¹, 20:20 y 30:30 mg v/v de Si:Cl L⁻¹, y un testigo fertilizado sólo con N tomado de urea y fertilizante foliar (Micro min 20-30-10). Las dosis se diluyeron en 3.0 L de agua y se aplicaron sólo una vez en el fondo de un surco de 5.0 cm de profundidad, construido manualmente con un triángulo metálico a un lado de la hilera de plantas, cuando éstas tuvieron cinco hojas verdaderas, en tanto que las plantas testigo sólo recibieron 3.0 L de agua. Posteriormente todas las parcelas experimentales fueron manejadas con riego por goteo durante una hora. Cada unidad experimental constó de 20 plantas seleccionadas al azar. Las variables de estudio fueron: verdor que se determinó con un Spad 502, en la parte media de dos folíolos de una hoja fisiológicamente madura y sin deterioro en cada planta. La altura de las plantas de tomate se midió con una cinta métrica, desde la base del tallo hasta la yema apical de la misma. El área foliar se evaluó en la séptima hoja verdadera a los 20 días después de la aplicación de silicio y se utilizó la fórmula= $0.347 (L.W) - 10.7$ de Blanco y Folegatti, (2003). Se cosechó tres veces por semana, se registraron los °Brix y el pH de los frutos, así como el rendimiento por hectárea con base al peso de frutos, los cuales deberían tener no menos de 3.2 cm de diámetro y 12.7 cm de longitud.

Los datos recabados se analizaron estadísticamente con el paquete estadístico SAS, y se hizo comparación múltiple de medias con la prueba de Duncan ($\alpha \leq 0.05$).

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se puede notar que las plantas cultivadas en casa sombra, en verdor no se observaron diferencias estadísticas, sin embargo las plantas tratadas con Si en dosis de 20 y 30 mg L⁻¹, incrementaron ligeramente su verdor (5 y 10%, respectivamente), comparados con el promedio del testigo. En altura se mostraron diferencias estadísticas, aunque el mayor incremento ocurrió en las plantas tratadas con Si en dosis de 30 mg L⁻¹ y en aquellas cultivadas con 20:20 mg de Si:Cl, con el resto de los tratamientos la altura disminuyó. En área foliar también ocurrieron diferencias estadísticas significativas entre los promedios que se indican en el Cuadro 1, de tal manera que las plantas testigo superaron a las tratadas con Si, Cl o la combinación de ambos elementos. La materia seca de raíz se expresó con diferencias estadísticas, de tal manera que las dosis 30:30 mg L⁻¹ de Si:Cl incrementaron la materia seca en 127 % en relación al testigo. En peso seco de parte aérea las plántulas tratadas con las dosis de 30 mg L⁻¹ de Si y 30:30 mg L⁻¹ de Si:Cl fueron estadísticamente iguales al testigo con valores porcentuales superiores al testigo en 8 y 3 %, respectivamente.

Cuadro 1. Verdor, altura, área foliar, materia seca de raíz y parte aérea de plántulas de tomate.

Dosis	Verdor (SPAD)	Altura (cm)	Área foliar (cm ²)	Materia seca de raíz (g)	Materia seca de parte aérea (g)
20 mg L ⁻¹ de Si	37.13 a	8.50 cde	37.30 abc	0.21 ab	0.31 bc
30 mg L ⁻¹ de Si	38.89 a	10.47 a	35.32 c	0.19 ab	0.39 a
50 mg L ⁻¹ de Si	35.68 a	8.90 bcd	35.77 c	0.15 ab	0.29 cd
20 mg L ⁻¹ de Cl	34.68 a	8.60 cde	37.28 abc	0.23 a	0.27 cd
30 mg L ⁻¹ de Cl	35.49 a	8.61 cde	36.39 bc	0.10 b	0.24 d
50 mg L ⁻¹ de Cl	35.78 a	9.11 cd	35.67 c	0.24 a	0.34 abc
20:20 mg L ⁻¹ de Si-Cl	35.74 a	7.70 e	38.00 ab	0.12 b	0.22 d
30:30 mg L ⁻¹ de Si-Cl	34.88 a	9.91 ab	35.97 c	0.25 a	0.37 ab
50:50 mg L ⁻¹ de Si-Cl	35.47 a	8.03 cde	38.59 a	0.12 b	0.23 d
0 mg L ⁻¹ (testigo)	35.28 a	7.83 de	38.51 a	0.11 b	0.36 ab

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, Duncan ($P \leq 0.05$).

Segundo experimento

En el Cuadro 2 se puede notar que las plantas cultivadas en casa sombra, en verdor se observaron diferencias estadísticas, de tal manera que las plantas tratadas con Si, Cl y Si:Cl en dosis de 20, 20 y 30:30 mg L⁻¹, incrementaron ligeramente su verdor (0.5, 3 y 2 %, respectivamente), comparados con el promedio del testigo. En altura se mostraron diferencias estadísticas, aunque el mayor incremento ocurrió en las plantas testigo y en aquellas cultivadas con 30:30 mg de Si:Cl, con el resto de los tratamientos la altura disminuyó. En área foliar también ocurrieron diferencias estadísticas significativas entre los promedios que se indican en el Cuadro 2, de tal manera que las plantas tratadas Si:Cl en dosis de 30:30 mg L⁻¹ tuvieron un incremento de 11 % en comparación al testigo, el resto de las dosis decrecieron en área foliar en un 4-39 %. El rendimiento se expresó con diferencias estadísticas (Cuadro 2), pero en relación al testigo las plantas tratadas con Cl en dosis de 50 mg L⁻¹ representaron incrementos porcentuales superiores en un 3 %. El resto de las dosis obtuvieron menor rendimiento, que oscilaron en un 5-27 %.

Cuadro 2. Crecimiento de tomate F₃ bajo condiciones de casa sombra.

Dosis	Verdor (Spad)	Altura (cm)	Área foliar (cm ²)	Rendimiento
-------	---------------	-------------	--------------------------------	-------------

	(t ha ⁻¹)			
20 mg L ⁻¹ de Si	49.85 abc	68.00 bcd	308.66 bc	23.21 a
30 mg L ⁻¹ de Si	47.19 c	73.47 b	335.95 ab	23.20 a
50 mg L ⁻¹ de Si	48.12 bc	53.87 e	214.61 d	17.84 b
20 mg L ⁻¹ de Cl	51.12 a	63.47 cd	282.12 bcd	23.22 a
30 mg L ⁻¹ de Cl	48.46 abc	71.83 b	300.18 bc	21.49 ab
50 mg L ⁻¹ de Cl	50.24 ab	70.03 bc	302.33 bc	25.14 a
20:20 mg L ⁻¹ de Si-Cl	48.37 abc	62.70 d	233.57 cd	21.75 ab
30:30 mg L ⁻¹ de Si-Cl	50.78 ab	80.13 a	390.57 a	21.75 ab
0 mg L ⁻¹ (testigo)	49.56 abc	81.40 a	350.49 ab	24.50 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, Duncan ($P \leq 0.05$).

Los °Brix de frutos cosechados de las plantas tratadas con Si, Cl o Si:Cl, se incrementaron con respecto al testigo (Cuadro 3); sin embargo, el mayor incremento (9%) ocurrió en las plantas cultivadas con Cl en dosis de 20 mg L⁻¹, siguiéndole Cl y Si en dosis de 30 y 50 mg L⁻¹, respectivamente, los °Brix promedios de frutos cosechados de las plantas cultivadas con combinaciones de Si-Cl en dosis de 30:30 mg L⁻¹, fueron estadísticamente iguales a los del testigo, aunque en valores absolutos tuvieron decrementos de 6 %. Aparentemente lo anterior indica que las dosis Si y Cl, por si solos ocasionan efectos individuales superiores a los que induce con la combinación de ambos elementos, contrariamente a lo que se observó en los °Brix, los promedios de pH variaron en los frutos de las plantas cultivadas con las diferentes dosis de Cl, Si o con las de ambos nutrientes a la vez, donde las plantas testigo incrementaron los niveles de pH.

Cuadro 3. ° Brix y pH de frutos de tomate cultivado bajo condiciones de casa sombra

Dosis	° Brix	pH
20 mg L ⁻¹ de Si	3.65 abc	4.38 abc
30 mg L ⁻¹ de Si	3.73 ab	4.34 ab
50 mg L ⁻¹ de Si	3.78 ab	4.37 bc
20 mg L ⁻¹ de Cl	3.89 a	4.39 ab
30 mg L ⁻¹ de Cl	3.79 ab	4.41 ab
50 mg L ⁻¹ de Cl	3.60 abc	4.33 bc
20:20 mg L ⁻¹ de Si-Cl	3.53 bc	4.36 bc

30:30 mg L ⁻¹ de Si-Cl	3.35 c	4.28 c
0 mg L ⁻¹ (testigo)	3.57 abc	4.47 a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, Duncan ($P \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

El ligero incremento del verdor de las plántulas, la mayor altura, así como el incremento del peso de materia seca de raíz y de la parte aérea, son aspectos que indican la eficiencia fotosintética de aquéllas tratadas con silicio, ya que de otra manera hubiera ocurrido respuesta totalmente similares con respecto al testigo y, en consecuencia, también indican mejora en la calidad de plántulas. Estos resultados coinciden con lo reportado por Valente *et al.* (2004), quienes han referido que los efectos directos del silicio se acompañan de varios efectos indirectos, que incluyen un aumento de la capacidad fotosintética, la reducción de las tasas transpiratorias, un mayor crecimiento de las plantas y mayor resistencia mecánica de las células. En relación al Cl, Li *et al.* (2002), observaron que éste se acumula principalmente en los cloroplastos, y es esencial para la función fotosintética. Las plantas con deficiencia de cloro muestran síntomas de marchitez, clorosis, necrosis y una decoloración de bronce inusual.

Se puede inferir que el silicio aplicado en plántulas con la primera hoja verdadera ocasionó efectos que mejoran la calidad de las plántulas, pero cuando se aplicó en plántulas con cinco hojas verdaderas los efectos fueron contrarios. Esto coincide con lo encontrado por Viana (2005), quien señala que el silicio tiene acción benéfica en algunas plantas y en otras no. Los resultados en el verdor difieren con los de Jianpeng *et al.* (2010), ya que ellos encontraron que Si incrementa significativamente los niveles de clorofila a, clorofila b, clorofila total y carotenoides en hojas de pepino, a los 10 y 15 días de haber sido tratadas con dicho elemento. Diferencias que pueden ser debido a que se trata de diferente especie, como lo señala Viana (2005). Por eso los resultados de esta investigación concordaron con los referidos por Chapagain *et al.* (2011), quienes mencionan que el Cl es un micronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas, que es requerido en pequeñas cantidades por todos los cultivos, y su rol es ayudar en la fotosíntesis, regular las funciones de enzimas, la regulación estomática por pérdida de agua, transportar nutrientes en las plantas (Ca, Mg, K), incrementar la producción en cereales, aumentar la resistencia a las enfermedades, y con niveles adecuados del suministro, el Cl mejora los rendimientos y la calidad de muchos cultivos, como la cebolla y el algodón (Chen *et al.*, 2010). Esta

coincidencia no sólo fue con las plantas tratadas con Si y Cl de manera individual, sino también con la combinación de ambos. Gomez *et al.* (2006) mencionan que mediante un manejo nutrimental, donde se agregue silicio, las plantas pueden incrementar hasta el doble de rendimiento en relación al testigo.

CONCLUSIONES

Silicio y Cloro en dosis de 20, 30 y 50 mg L⁻¹, aplicada en riego por decantación al sustrato, cuando las plántulas presentaban la primera hoja verdadera, fueron eficaces para incrementar el verdor, altura y materia seca de raíces y en consecuencia, también mejoro la calidad de plántulas; pero cuando se aplicó a través del riego por goteo en plantas con cinco hojas verdaderas, los efectos fueron menores y contrarios a los que se observaron en las plantas testigos, sin embargo Si y Cl en dosis de 20 mg L⁻¹, fueron eficaz para incrementar ligeramente el verdor y disminuir altura, sin embargo Cl por si sólo en dosis de 50 mg L⁻¹ fue eficaz para aumentar el verdor, disminuir altura e incrementar rendimiento. En cambio las dosis más adecuadas para incrementar ° Brix fueron Si y Cl en dosis de 20, 30 y 50 mg L⁻¹, respectivamente, en relación al testigo.

LITERATURA CITADA

- Balakhnina, T and Borkowska, A. 2013. Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses: review. *Int. Agrophys.* 27: 225-232.
- Blanco, F. F y Folegatti, M. V. 2003. New method for estimating the leaf área index of cucumber and tomato plants. *Horticultural Brasileira, Brasilia.* 21 (4): 666-669.
- Borda, O. A., Barón, F. H y Gómez, M. I. 2007. El silicio como elemento benéfico en avena forrajera (*Avena sativa* L.): Respuestas fisiológicas de crecimiento y manejo. *Agronomía Colombiana.* 25 (2): 273-279.
- Chapagain, B. P., Wiesman, Z., Zaccari, M., Imas, P. and Magen, H. 2011. Potassium Chloride Enhances Fruit Appearance and Improves Quality of Fertigated Greenhouse Tomato as Compared to Potassium Nitrate. 643-658. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/PLN-120017671> (Consultado: mayo 13, 2017).
- Chen, W., He, Z. L. , Yang, X. E. , Mishra, S. and Stoffella, P. J. 2010. Chlorine nutrition of higher plants: progress and perspectives'. *Journal of Plant Nutrition.* 33 (7): 943-952.
- Epstein, E. 2009. Silicon: its manifold roles in plants. *Annals of Applied Biology.* 55: 155-160.
- Gómez, C. R., Rodríguez, M. M., Cárdenas, S. E., Sandoval, V y Colinas, L. M. 2006. Fertilización foliar con silicio como alternativa contra la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* (sheld) en tomate de cáscara. *Revista Chapingo Serie Horticultura.* 12(1): 69-75.

- Jianpeng, F., Qinghua, S., Xiufeng, W., Min, W., Fengjuan, J. and Huinu, X. (2010). Silicon supplementation ameliorated the inhibition of photosynthesis and nitrate metabolism by cadmium (Cd) toxicity in *Cucumis sativus* L. *Scientia Horticulturae*. 123: 521-530.
- Li, T. X., C. Q. Wang, G. R. Ma, X. Z., Zhang. and R. S. Zhang. 2002. Research progress of chloridecontaining fertilizer. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences* 15: 86-91.
- Malavolta, E. G. C., Vitti. y Oliveira, S. A. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Ed. POTAFOS, 2da ed., rev. e actual. Piracicaba, Brasil. 319 p.
- Mitani, N. and MA, J. F. 2005. Uptake system of silicon in different plant species. *Journal of Experimental Botany*. 56: 1255-1261.
- Preciado, P., Favela, C. E y Benavides, M. A. (2006). Manual para la preparación de soluciones nutritivas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, México. 85 p.
- SAGARPA. 2017. Aumenta 35 por ciento producción de jitomate “Hecho en México” <https://www.horticultivos.com/cultivos/tomate/la-produccion-tomate-mexico-estados-unidos> (Consultado: junio, 2018).
- Valente, A., Moráis, R., Couto, C., Correira, J. H. 2004. Modeling, simulation and testing of a silicon soil moisture sensor based on the dual-probe heat-ptilse method. *Sens and Actuators A*. 115 (2): 434-439.
- Viana, J. E. 2005. Importancia del silicio en la nutrición vegetal. Agromil. Tolima, Colombia. <http://www.silicioagromil.com>. (Consultado: septiembre, 2016).

PAQUETE TECNOLÓGICO EN POSCOSECHA DE CHILE BELL (*Capsicum annuum* L.) PARA SU TRANSPORTE A MERCADOS DISTANTES

Rosalba Contreras Martínez¹, Teresa de Jesús Vázquez Alcaraz¹, Manuel Alonzo Báez Sañudo², Felipe Ayala Tafoya¹, Carlos Alfonso López Orona¹, Tomás Díaz Valdés¹ y Moisés Gilberto Yañez Juárez¹.

¹Maestría en Ciencias Agropecuarias, Facultad de Agronomía.

¹Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa.

INTRODUCCIÓN

Para prolongar la vida poscosecha de los productos hortofrutícolas se han implementado diferentes tecnologías, entre ellas el almacenamiento a bajas temperaturas, la utilización de empaques plásticos para crear atmósferas modificadas, la aplicación de tratamientos hidrotérmicos, irradiación y formulaciones que contienen agentes biológicos, entre otras (Borchert *et al.*, 2014; Mangaraj *et al.*, 2009; Beaudry, 2000). Las frutas y hortalizas son una fuente importante de carbohidratos, proteínas, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales para la nutrición humana (Kurubas *et al.*, 2018). El chile bell es de la familia de las solanáceas es una fruta no climatérica debido a su maduración independiente del etileno (Barry y Giovannoni 2007). Numerosas variedades de frutos de pimiento difieren en forma, color y contenido de capsaicina, pero son frutos que se utilizan comúnmente en las dietas debido a su color, sabor picante, sabor y/o aroma característicos (Singh *et al.*, 2014). La vida útil de un producto puede definirse como el período de tiempo desde la cosecha hasta su fabricación y el consumo de un producto alimenticio. Esta se ve afectada por factores intrínsecos como la respiración, la estructura biológica, la producción y sensibilidad del etileno, la transpiración, los cambios de composición, los procesos de desarrollo y la degradación fisiológica (Mangaraj *et al.*, 2009). La temperatura influye fuertemente en la actividad metabólica de los tejidos y órganos de las plantas, y los productos hortofrutícolas; la refrigeración es la conservación poscosecha más utilizada, aunque esta tecnología en la mayoría de los productos hortofrutícolas presenta una alta susceptibilidad al frío, temperaturas menores de 11 ° C (Tano *et al.*, 2007; Chitravathi *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2019). Las atmósferas controladas, modificadas o películas comestibles restringen los gases a intercambiar, es por esto que tienen su principio a través del proceso natural de la respiración pero con el producto cerrado, lo que reduce la concentración de O₂ y aumenta la concentración de CO₂ bajo intercambio restringido de gas a través de la barrera de la película (Lee *et al.*, 1996; Beaudry, 2000; Manfaraj *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2015). La mayoría de las exportaciones de frutas y hortalizas están orientadas a cubrir la demanda de los mercados en distintas partes del mundo. La búsqueda de nuevos mercados de exportación se ha dirigido a países europeos y a Japón; es por ello que para competir en esos mercados es necesario llegar con productos de excelente calidad. Debido a que las frutas y las

hortalizas son altamente perecederas, es importante realizar un buen manejo después de la cosecha con el propósito de reducir la deshidratación y la pérdida de calidad durante la maduración y el mercadeo, ya que después de la cosecha se desencadenan una serie de sucesos propios de la maduración (Jayas y Jeyamkondan, 2002). Es necesario utilizar tecnologías que permitan reducir el proceso de respiración, conservar las características físicas, organolépticas y microbiológicas de los productos; dado que la manipulación inadecuada, el deterioro, y la falta de conocimiento e inversión en poscosecha, entre otras, hacen que muchos productos no lleguen a su destino final; provocando con esto, pérdidas económicas graves a los productores, comercializadores y en ocasiones a los consumidores (Coles *et al.*, 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial México ocupa el primer lugar en exportación de chile bell, siendo su principal mercado Estados Unidos de Norteamérica debido principalmente a su poder adquisitivo y la cercanía; sin embargo, el chile bell es una fruta altamente perecedera con una corta vida de anaquel, muy susceptible al manejo poscosecha lo que ocasiona pérdidas cuantiosas en cantidad y calidad cuando se manipula de forma inadecuada. Si se pretende alcanzar otros mercados y más distantes por lo que es necesario conocer tecnologías poscosecha, solas o combinadas, además de utilizar la refrigeración, manteniendo así sus características físicas y organolépticas de calidad en chile bell, verde, amarillo, rojo y naranja, que permitan a su vez extender la vida comercial para acceder a mercados distantes.

HIPÓTESIS

La aplicación de ceras y/o películas comestibles extenderá por lo menos una semana la vida de comercial de los frutos bell pepper al mantener sus características bajo simulación de mercadeo, posterior a un almacenamiento por 4 semanas a 10°C.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diversas tecnologías, solas y combinadas, sobre la calidad poscosecha de bell pepper, posterior a un almacenamiento por 4 semanas a 10°C, que simulan las condiciones del transporte marítimo hacia mercados distantes.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar, bajo condiciones de simulación de mercadeo, el efecto de la aplicación de 2 ceras en las características físicas, químicas y fisiológicas en bell pepper, con

almacenamiento por 4 semanas a 10°C, que simulan las condiciones del transporte marítimo hacia el continente Asiático.

2. 1. Evaluar, bajo condiciones de simulación de mercadeo, el efecto de la aplicación de 2 películas plásticas sobre las características físicas, químicas y fisiológicas en bell pepper, con almacenamiento por 4 semanas a 10°C, que simulan las condiciones del transporte marítimo hacia el continente Asiático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los chiles se cortarán de forma manual y posteriormente se llevarán a los laboratorios del CIAD, A.C. en Culiacán, Sinaloa donde se lavarán con agua clorada a 200 ppm y después se hará una homogenización y separación para hacer los tratamientos, donde se aplicarán las dos ceras y las dos películas plásticas, las combinaciones de ceras y películas plásticas así como el testigo, con un total de 9 tratamientos. Los frutos se almacenarán por 4 semanas a 10°C, que simulan las condiciones del transporte marítimo hacia el continente Asiático. Después se analizarán bajo simulación mercadeo (20°C) por un período de 10 días realizando las evaluaciones correspondientes cada dos días. La producción de CO₂ se hará diariamente.

Análisis Físicos

Pérdida de Peso.- Se realizará de manera gravimétrica, midiendo las diferencias cada 24 h entre el peso inicial de los frutos y el peso final durante el experimento. Se utilizará una balanza digital Mettler BP-4100, expresando los resultados como porcentaje de pérdida de masa (Díaz, 1997)

Firmeza.- La firmeza se determinará por compresión aplicando una fuerza de 2 kg en la parte ecuatorial del fruto utilizando un penetrómetro Chatillon Digital Force Gauge (DFIS-50). Los resultados se expresarán como milímetros de deformación (Lurie, 1995)

Color.- Se utilizará un colorímetro Minolta CM-700d mediante el sistema de color L*, C* y Hue (luminosidad, cromaticidad y ángulo de matiz, respectivamente). Las mediciones se tomarán en lados opuestos de la parte ecuatorial del fruto cada dos días (Siller, 1998).

Análisis Químicos

Extracción y Permeabilidad de Cutículas.- Trozos de chile bell pepper se calentarán en agua a (80°C) por 5 min para facilitar el desprendimiento de la cutícula del tejido.

Posteriormente, las cutículas se colocarán en una disolución digestiva de HCl fumante (7 mL) y $ZnCl_2$ (4 g) por 72 h realizando agitaciones de las muestras diariamente. Las cutículas aisladas se lavarán varias veces con agua destilada y se colocarán en H_3BO_4 al 2% por 24 h con el fin de remover el exceso de materia orgánica que pudiera quedar adherida a las mismas (Mendoza, 1996). Las cutículas extraídas se lavarán con agua destilada y se colocarán en charolas de aluminio con 4 orificios. Después de 24 h, las charolas de aluminio con las cutículas adheridas se montarán sobre cajas petri de vidrio de 11 cm de diámetro conteniendo 5 mL de agua destilada. Después, las cutículas montadas se incuban a $25\pm 1^\circ C$ y se pesan a intervalos de una hora durante 8 horas para determinar así la pérdida de vapor de agua a través de la cutícula (aprox. 0.1% del peso inicial). Los resultados se expresan como mg de agua en forma de vapor/cm² de cutícula/hora.

pH, Acidez Titulable y Sólidos Solubles Totales.- Estas determinaciones se realizarán de acuerdo a la metodología propuesta por la AOAC (1998). Muestras de tejido se homogeneizarán en agua destilada pH neutro, se filtran y se toman alícuotas para los análisis correspondientes. Para pH y acidez titulable se utilizará un titulador automático Mettler Toledo T-50 con una solución de NaOH 0.1N hasta alcanzar un pH de 8.2 que indica la neutralización de ácido-base. Los datos obtenidos se reportan como porcentaje de ácido cítrico presente en la muestra. La concentración de sólidos solubles se determinará colocando una gota del filtrado en un refractómetro Mettler Toledo RM-40, con temperatura compensada y previamente calibrado con agua pura. Los resultados se expresan como °Brix.

Análisis Fisiológicos

Tasa de Respiración y Producción de Etileno

Dos frutos de cada tratamiento previamente pesados, se colocarán en frascos de 3.5 L de capacidad con el fin de monitorear la producción de bióxido carbono de los frutos por efecto de la respiración. Los frascos adaptados con mangueras de salida y entrada de aire están conectados a un tren de respiración con flujo constante de aire (60 mL/min aprox.) y libre de CO₂ donde se mantendrán por 10 días en evaluación. Muestras de aire de la manguera de salida se toman diariamente con una jeringa de 1 mL para ser analizadas en un cromatógrafo de gases Agilent 3300, el cual está equipado con dos detectores; uno de conductividad térmica para CO₂ y otro de ionización de flama para etileno. La cuantificación se realiza mediante integración de los picos de la muestra en curvas de calibración de estándares conocidos (Báez, 1997). Los resultados se reportan como mL de CO₂/kg/hr y μL de C₂H₄/kg/hr.

Análisis Nutrimientales

Contenido de Vitamina C

La extracción se llevará a cabo tomando una parte del fruto a la cual se adicionaron 4 partes de agua deionizada (1:4). La mezcla será homogenizada en una licuadora convencional por un tiempo de 2 minutos. La muestra se filtrará en una malla de organza y después se pasará por papel Whatman No. 41, el sobrenadante se pasará por un cartucho de Sep-Pak C-18 y finalmente a través de una membrana de Nylon de 0.45 µm X 25 mm de diámetro, siempre manteniendo las muestras alejadas de la luz blanca. Se utilizará un cromatógrafo de líquidos Varian equipado con un detector de UV con arreglo de diodos ProStar 330, los resultados se analizarán con el área bajo la curva y utilizando la siguiente fórmula descrita por Gökmen *et al.*, 2000.

Diseño de Experimentos

Se realizará un diseño completamente al azar con arreglo factorial para tiempo y tratamientos. Se utilizarán cinco réplicas por tratamiento y dos repeticiones por réplica para cada día de análisis.

En caso de encontrar diferencias en el ANOVA se realizará la separación de medias mediante una prueba de comparación (Tukey) con una probabilidad de error del 5%.

LITERATURA CITADA

A.O.A.C. 1998. Official Methods of Analysis. 14th edition.

Báez S., M.A., J. Siller, J. Heredia, T. Portillo, E. Araiza, R. García y M. Muy. 1997. Fisiología poscosecha de frutos de chicozapote (*Achras sapota* L.) durante condiciones de mercadeo. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 41:209-214.

Barry, C. S. y Giovannoni, J.J. 2007. Ethylene and Fruit Ripening. Journal of Plant Growth Regulation. Volume 26: pp. 143-159. DOI: 10.1007/s00344-007-9002-y

Beaudry, R. M. 2000. Responses of Horticultural Commodities to Low Oxygen: Limits to the Expanded Use of Modified Atmosphere Packaging. HortTechnology. pp. DOI: 10.21273/HORTTECH.10.3.491

Borchert, N. B., Cruz-Romero, M.C., Mahajan, P.V., Ren, M., Papkovsky, D. B., Kerry, J.P. 2014. Application of gas sensing technologies for non-destructive monitoring of headspace gases (O₂ and CO₂) during chilled storage of packaged mushrooms (*Agaricus bisporus*) and their correlation with product quality parameters. Food Packaging and shelf life. pp. 17-29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2014.05.001>

Chitravathi, K., Chauhan, O.P., Raju, P.S. 2015. Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of Green chilies (*Capsicum annuum* L.) Food packaging and shelf life. pp 1-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.02.001>

Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M.J. 2003 Food Packaging Technology. Blackwell Publishing Ltd. Editorial Offices. pp. 340. ISBN 1-84127-221-3

Díaz-Pérez, J.C. and E. Araiza. 1997. Changes in transpiration rates and skin permeance as affected by storage and stage of tomato fruit ripeness. 7th International controlled atmosphere research conference. July 13-18. University of California, Davis. USA.

Gökmen V., Kahraman N., Demir N., y Acar J. 2000. Enzymatically validated liquid chromatographic method for the determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in fruits and vegetables. Journal of Chromatography A. Vol. 881 pp 309-316.

Jayas. D.S. and Jeyamkondan, 2002. Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables. Biosystems Engineering. pp. 235-251. doi:10.1006/bioe.2002.0080

Kurubas, M., Maltas, A.S. Dogan, A., Kaplan, M., Erkan, M., 2018. Comparison of organically and conventionally produced Batavia type lettuce stored in modified atmosphere packaging for postharvest quality and nutritional parameters. Society of Chemical Industry. pp. 226-234. DOI 10.1002/jsfa.9164

Lee, L., Arult, J., Lencki, R. y Castaignet, F. 1996. A Review on Modified Atmosphere Packaging and Preservation of Fresh Fruits and Vegetables: Physiological Basis and Practical Aspects-Part II. Packaging Technology and science. Volume 9. pp. 1-17.

Lurie, Susan, R. Ronen and B. Aloni. 1995. Growth-regulator-induced alleviation of chilling injury in green and red bell pepper fruit during storage. *HortScience* 30(3):558-559.

Mangaraj, S., Goswami, T.K., Mahajan, P.V. 2009. Applications of Plastic Films for Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables: A Review. *Food Engineering Rev.* Volume 1. pp. 133-158. DOI 10.1007/s12393-009-9007-3

Singh, R., Giri, S.K., Kotwaliwale, N. 2014. Shelf-life enhancement of green bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under active modified atmosphere storage. *Food packaging and shelf life*. pp. 101-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2014.03.001>

Siller, J, A. Elizondo, R. García, M. Báez y V. Pérez. 1998. Efecto de la temperatura de almacenamiento y el empaque con bolsas en la calidad y vida de anaquel de frutos de chile bell (*Capsicum annuum*, L.). CIAD, A.C. unidad Culiacán. Informe técnico No. 008.

Tano, K., Oulé, M.K., Doyon, G., Lencki, R.W. Arul, J. 2007. Comparative evaluation of the effect of storage temperature fluctuation on modified atmosphere packages of selected fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. Volume 46. pp. 212-221. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.05.008

SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A *Rickettsia rickettsii* EN PERROS DEL SUR DE SONORA, MÉXICO

Jesús Raymundo Cedillo Cobián¹, Dra. Gabriela Silva Hidalgo¹, Dr. Ramón Miguel Molina Barrios², Dra. Silvia del Carmen Cota Guajardo¹, Dr. Juan Francisco Hernández Chávez².

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Sinaloa. jcedillo_69@hotmail.com ²Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Instituto Tecnológico de Sonora.

INTRODUCCIÓN

La fiebre manchada de las Montañas Rocosas (FMRR) afecta fundamentalmente al hombre y a los perros, el agente etiológico es *Rickettsia rickettsii*, cocobacilo polimorfo descubierto por Howard Ricketts en 1908. Ricketts describió la epidemiología básica de la enfermedad; a partir de estudios realizados en cobayos, demostró que la enfermedad era adquirida a través de sangre infectada y que los vectores son las garrapatas de la especie *Dermacentor andersoni*, la que puede transmitir a la bacteria a través de su progenie (transmisión transovárica) (Díaz y Castaño, 2010). Igual se considera a *Rhipicephalus sanguineus* (Nicholson *et al*, 2006); Sosa *et al*, 2016, determinan por PCR que la *R. rickettsii* está presente en *R. sanguineus*, *Amblyomma cajenense*, *A. maculatum* y *A. americanum*, *Dermacentor nitens*, todos en México. También se consideró como un vector potencial a *A. parvum* (Dzul-Rosado *et al*, 2013) Hace más de un siglo que fue descrita y la FMRR aún es una de las zoonosis más importantes en todo el mundo. En los últimos años incrementó su incidencia en Estados Unidos y también se informa en México (Straily *et al.*, 2016), (Sosa *et al*, 2016) y países de Centro y Suramérica (Quintero *et al.*, 2012).

La FMRR se diagnostica a través de cultivos microbiológicos, serología, inmunodetección y métodos moleculares (PCR). El ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFA) es considerado como el método de referencia, ya que se usa en la mayoría de los laboratorios de salud para el diagnóstico. La IFA se utiliza en varios estudios como el realizado en Sao Paulo, Brasil con 25 caninos y 35 humanos en el cual se detectaron 28% de caninos y un 2.8% de humanos seropositivos a *R. rickettsii* (Pinter *et al.*, 2008). Por otra parte, en Ensenada, Baja California México mediante pruebas de inmunoensayo enzimático (ELISA) e IFA demuestran una seroprevalencia ajustada de rickettsiosis en humanos del 3.9 % (Field *et al.*, 2015). Otro estudio reporta la primer detección por PCR de *R. rickettsii* en garrapatas *R. sanguineus* en el 26 % de las garrapatas obtenidas y analizadas de perros de un pueblo del Estado de Yucatán (Peniche-Lara *et al.*, 2015). También se informa de una letalidad del 57.1% en 14 pacientes, cuyo diagnóstico fue clínicamente y por PCR, atendidos en Saltillo, Coahuila (Lopez-Castillo *et al.*, 2018).

La FMRR es una enfermedad reemergente el Estado de Sonora, su importancia radica en ser una zoonosis con un alto índice de mortalidad en la población, particularmente en niños y adolescentes, desde Huatabampo hasta Hermosillo, se ha diseminado a 18 municipios,

pero solo tres de ellos (Cajeme, Navojoa y Huatabampo) concentra el 80% de la incidencia que desde el 2003 han registrado cerca de 600 casos (Alvarez, 2010).

Licona *et al.*, 2017, publican que afectó a 4 mujeres gestantes de Sonora, las que abortaron 3, pero todas sobrevivieron al tratamiento con doxiciclina, el diagnóstico se hizo por PCR e IFA. Según lo informan Alvarez *et al.*, 2018 la FMMR ha causado 1348 casos con 247 muertes desde el 2003 hasta el 2016. Además, concluye en su informe luego de una encuesta entre 343 médicos que trabajan en Sonora, que los conocimientos médicos inadecuados pueden afectar adversamente como los pacientes infectados son diagnosticados y tratados.

El programa de acción específico titulado: Prevención y control de las rickettsiosis elaborado por la Secretaria de Salud de México y el Sistema Nacional de Salud 2013-2018, establece en el apartado III situación actual y problemática que se desconoce la prevalencia de la rickettsiosis en los reservorios y vectores (CENAPRECE, 2014). Por ello, este trabajo de investigación doctoral pretende aportar estos importantes datos epidemiológicos como la prevalencia de *Rickettsia rickettsii* en perros y las garrapatas como vectores en el Estado de Sonora, así como los factores de riesgo que favorecen su distribución.

CENAPRECE, 2014 Estableció como uno de los retos 2013-2018 promover la implementación y validación de técnicas diagnósticas para identificación de Rickettsias y otros patógenos en pacientes, reservorios y vectores, en los Laboratorios Estatales de Salud Pública. Por medio de esta investigación se implementará el uso del ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFA) y la biología molecular (PCR) que proporcionará la información que se requiere sobre *R. rickettsii*.

HIPÓTESIS

La prevalencia de anticuerpos contra *Rickettsia rickettsii* del 10% de los perros muestreados del sur del Estado de Sonora y se demostrará que *Rhipicephalus sanguineus* es la garrapata más frecuentemente involucrada en la transmisión de *Rickettsia rickettsii*.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Rickettsia rickettsii* mediante el ensayo de inmunofluorescencia indirecta y biología molecular a partir de muestras de sangre de perros y garrapatas en el sur del Estado de Sonora y determinar los factores de riesgo que favorecen la presentación de esta enfermedad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la presencia de *Rickettsia rickettsii* mediante el ensayo de inmunofluorescencia indirecta en muestras de sangre de perros del sur del Estado de Sonora.

Determinar la presencia de *Rickettsia rickettsii* mediante PCR en garrapatas colectadas de perros que resultaron positivos por medio de inmunofluorescencia indirecta.

Determinar los géneros de garrapatas presentes en los perros que viven en los Municipios del sur del Estado de Sonora, que resulten positivos y negativos a la presencia de *Rickettsia rickettsii*.

Determinar los factores de riesgo involucrados con la presencia de *Rickettsia rickettsii* en perros del Estado de Sonora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del estudio. El presente estudio, será observacional, descriptivo, prospectivo, transversal y de asociación simple.

Localización del sitio experimental. Se tomarán muestras a 390 perros que viven en 13 municipios del sur del Estado de Sonora el cual se ubica al noroeste de la República Mexicana, tiene 184,934 kilómetros cuadrados de extensión. Es el segundo estado más grande en extensión después de Chihuahua. Se encuentra en los paralelos 42°43' y 25° 13' de latitud norte y entre los 115° y los 108° 26' de longitud oeste a partir del Meridiano de Greenwich (SS, 2017).

Características del muestreo. Se realizará un muestreo no probabilístico por conveniencia será de manera aleatoria sin importar las características de 30 perros infestados de garrapatas de cada municipio. Se tendrá un registro de la información de los perros muestreados, la que incluye identificación del propietario como nombre, teléfono y domicilio. También, datos de la mascota: nombre, raza, sexo, edad, frecuencia con la que se desparasita, nombre de los productos que utiliza, hábitat del perro (solo en el patio, patio y calle o solo calle o dentro del hogar) Así mismo, se colectarán al menos 10 garrapatas presentes en los perros.

Se visitarán los municipios previamente asignados, se seleccionarán domicilios al azar en donde haya perro, se solicitará el apoyo a los propietarios para autorizar la toma de una muestra de sangre de su perro, la colección de los ectoparásitos y el responder a una encuesta, hasta completar las 30 muestras por municipio.

Criterios de inclusión. Serán incluidos caninos sin importar la raza, sexo y edad, que aporten 3 mL de sangre, que estén parasitados por garrapatas y cuenten con un dueño y domicilio donde se localicen.

Criterios de exclusión. Caninos cachorros o de raza pequeña, que no tengan al menos 10 garrapatas, que no tengan dueño o que el dueño no de permiso de muestreo.

Toma de las muestras. Se utilizará un bozal para el manejo del animal y se hará una revisión general del perro, se realizará una punción a la vena cefálica usando el sistema de extracción por medio de jeringa, luego la sangre se depositará en un tubo de plástico sin anticoagulante a temperatura ambiente, que previamente se identificó con un número

progresivo. Después, se colocarán los tubos con sangre en una hielera con gel congelante y se transportarán a temperatura de refrigeración (4°C) al laboratorio de Patología del Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias del Instituto Tecnológico de Sonora.

Colección de garrapatas. En seguida de la colección de sangre, con la ayuda de unas pinzas de disección sin dientes se sujetara una garrapata a la vez, y serán colocados en tubos de plástico de 2 ml con 1mL de alcohol al 70% (Sosa *et al*, 2017), previamente identificados con número progresivo se congelarán a -21°C hasta su utilización.

Procesamiento de las muestras en laboratorio. Las muestras con sangre coagulada se centrifugarán a 5600 g por 5 minutos. El suero obtenido se depositará en viales de 1.5 mL y se congelaran a -20°C hasta la realización de las pruebas serológicas y moleculares requeridas.

Una vez, en el laboratorio se procederá a realizar una identificación en base a sus características morfológicas el tipo de garrapata presente y etapa evolutiva. Los datos obtenidos serán registrados. **Método de inmunofluorescencia indirecta.** Para la detección de anticuerpos anti-*R. rickettsii* se utilizará el método de Inmunofluorescencia Indirecta (IFA) (kit de diagnóstico de *Rickettsia rickettsii*, VMRD). Se atemperará la placa del kit diagnóstico de *Rickettsia rickettsii* de VMRD a temperatura ambiente antes de sacarse del empaque de aluminio Se diluirá el suero de las muestras obtenidas en el buffer para la dilución de suero con un pH de 7.2. Se posicionará el suero diluido en los pozos designados. Se incubará la placa en una cámara húmeda a 37°C por 30 minutos. Utilizando una botella para lavado, se enjuagará delicadamente la placa brevemente en el buffer para enjuague de FA con un pH de 9.0, luego se empapará por 10 minutos en el buffer para enjuague de FA con pH de 9.0. Se escurrirá la placa y se secará alrededor de los pozos con un papel secante con el que se presionará la superficie frontal. Se colocará FITC- etiquetada anti-IgG o -IgM conjugada en los pozos. Se incubará nuevamente en una cámara húmeda a 37°C por 30 minutos. De la misma manera, se enjuagará utilizando el buffer para enjuague de FA y se escurrirá la placa, se secará la parte de atrás y los bordes con una toalla de papel. No se deberá permitir que la superficie manchada se seque ni se debe enjuagar con agua. Las muestras se considerarán positivas al montarse y observarse los anticuerpos anti-*R. rickettsii* (con títulos 1/64 o mayores) en un microscopio de fluorescencia en el objetivo 100-250X. Se puede confirmar en el objetivo 400X.

Método de PCR. Esta prueba se realizará en las garrapatas que sean colectadas, para ello se formarán grupos de cinco casos. Utilizando de 1-5 garrapatas adultas, 1-20 ninfas o larvas (Troyo *et al*, 2016); que serán lavadas 3 veces en etanol, se sumergirán 3 veces en solución amortiguada de fosfatos estéril para remover los residuos del etanol, las garrapatas serán cortadas en piezas pequeñas y se homogenizarán en un vial de 1.5 mL (Ndip *et al*, 2010).

El protocolo de extracción de DNA se hará de los ectoparásitos utilizando QIAamp Mini Kit (QIAGEN) siguiendo el procedimiento que se indica posteriormente de acuerdo a las

instrucciones del fabricante y amplificación dependerá de los iniciadores que se obtengan como los utilizados por (Troym *et al*, 2016) o (Montenegro *et al*, 2017)

La extracción del ADN se realizará como se describe en breve: adicionar 20 µl de proteinasa K en un vial de 1.5 ml, 200 µl de la muestra, 200 µl de buffer AL; agitar en vortex por 15 segundos, incubar a 56 °C durante 10 minutos; adicionar 200 µl de etanol absoluto a la muestra y mezclar en vortex por 15 segundos, pasar la muestra del paso anterior a la columna y centrifugar a 8000 rpm durante 1 minuto, pasar la columna a un tubo colector nuevo y adicionar 200 µl del buffer AE, incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente y centrifugar a 7168 g por un minuto (QIAGEN, 2010).

Factores de riesgo. Para el evaluar los factores de riesgo se aplicará un cuestionario a los propietarios de los perros muestreados que incluye identificación del propietario como nombre, teléfono y domicilio. También, datos de la mascota: nombre, raza, sexo, edad, frecuencia con la que se desparasita, nombre de los productos que utiliza, hábitat del perro (solo en el patio, patio y calle o solo calle, dentro de la casa).

Análisis de información. Los resultados se expresarán en tablas y gráficas y serán analizados por estadística descriptiva, así como estadística no paramétrica, y la asociación con Odds Ratio (OR) con un alfa 0.05.

Variables. A analizar serán: Perros positivos y negativos a anticuerpos anti-*Rickettsia rickettsii* determinados por IFA según su procedencia, sexo, edad. Géneros de garrapatas colectadas según su procedencia y su positividad por PCR a *Rickettsia rickettsii*. Asociación entre perros positivos y garrapatas positivas a *Rickettsia rickettsii*. Factores de riesgo involucrados con los casos positivos a *Rickettsia rickettsii*

LITERATURA CITADA

- Alvarez-Hernandez G. 2010. La fiebre manchada de las montañas rocosas, una epidemia olvidada. Salud Publica mex. 52 (1):1-3 PMID 20464246
- Alvarez-Hernandez G, Kasey E, Acuña-Melendrez NH, Vargas-Ortega AP, Candia-Plata MC. 2018. Medical Knowledge related to Rocky Mountain spotted fever in Sonora, Mexico. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1;112 (3). 109-114, <https://doi.org/10.1093/trstmh/try030>
- CENAPRECE, 2014. Prevención y control de las rickettsiosis. Consultado el Enero 2018 http://www.cenaprece.salud.gob.mx/descargas/pdf/PAE_PrevencionControlRickettsiosis2013_2018.pdf
- Díaz JS., Cataño JC. 2010. Fiebre manchada de las montañas rocosas ni tan manchada ni tan montañosa como pensábamos. Rev. Infectio. 14(4): 264-276.
- Dzul-Rosado K, Peniche-Lara G, Tello-Martin R, Zavala-Velazquez J, Campos pacheco R, Labruna MB, Sanchez EC, Zavala-Castro J. 2013. *Rickettsia rickettsia* isolation from

naturally infected *Amblyomma parvum* ticks by centrifugation in a 24-well culture plate technique. *Open Vet J* vol3(2): 101-105. ISSN 2218-6050 (online) PMID 26623321

Field J., Escárcega A. M., López G., Barreras A., Tinoco L. 2015. Seroprevalence and risk factors associated with rickettsiosis (*Rickettsia rickettsii*) in humans in Baja California, Mexico. *Gac Med Mex.* 151:38-42.

Licona-Enriquez JD, Delgado de la Mora J. Paddock CD, Ramirez-Rodriguez CA, Candia-Plata MDC, Hernandez GA. 2017. Rocky Mountain Spotted Fever and Pregnancy: four Cases from Sonora, Mexico. *Am J Trop Hyg.* 97(3): 795-798. Doi: 10.4296/ajtmh.16-0917. Epub 2017 jul 19

López-Castillo DC, Vaquera-Aparicio D, Gonzales-Soto MA, Martinez-Ramirez R, Rodriguez-Muñoz L, Solorzano-Santos F. 2018. Fiebre Mancada de Montañas rocosas: experiencia en 5 años de vigilancia activa en un hospital pediátrico de segundo nivel en el noroeste de Mexico. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 75 (5): 303-308. Ddoi: 1024875/BMHIM.M18000034

Montenegro DC, Bitencourth K, V de Oliveira S, Borsoi AP, Cardoso K, Sousa MSB, Giordano-Diaz C, Amorim M, Serra-Freire NM, Gazeta GS, Brazil RP. 2017. Spotted Fever: Epidemiology and Vector-Rickettsia_Host Relationship in Rio de Janeiro State. *Fron Microbiol* 30,8:505

Nicholson WL, Paddock CD, Demma L, Traeger M, Johnson B, Dickson J, McQuiston J, Swerdlow D. Rocky Mountain spotted fever in Arizona: documentation of heavy environmental infestations of *Rhipicephalus sanguineus* at an endemic site. 2006. *Ann N Y Acad Sci.*1078: 338-41.doi: 10.1196/annals.1374.065

Ndip L, Ndip R, Esemu S, Walker D, McBride J. 2010. Predominance of *Erlchia chaffeensis* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from a Kennel-confined dog in Limbe, Cameroon. *Exp Appl Acarol* 50 (2): 163-168

Peniche-Lara G, Jimenez-Delgadillo B, Dzul-Rosado K. 2015. *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia felis* infection in *Rhipicephalus sanguineus* ticks and *Ctenocephalides felis* fleas co-exist in a small city in Yucatan, México. *J Vector Ecol.*40(2):422-4 doi: 10.1111/jvec.12185

Pinter A., Horta, M., Pacheco, R., Moraes-Filho, J., Labruna, M. 2008. Serosurvey of *Rickettsia spp.* in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. *Cad. Saude Publica.* 24(2): 247-252. DOI 10.1590/SO102-311X2008000200003

QIAGEN. 2010. QIAamp DNA Mini and Blood mini Handbook.
<http://www.qiagen.com/literature/render.aspx?id=200373>

- Quintero J. C., Hidalgo M., Rodas J. D. 2012. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Universitas scientiarum* Vol. 17 N° 1: 82-99. Consultado el 14 junio 2017
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-74832012000100009
- Sosa- Gutierrez Carolina G, Vargas- Sandoval M, Torres J, Gordillo-Perez G. 2016. Tick-borne rickettsial pathogens in questing ticks, removed from humans and animals in Mexico. *J Vet Sci.*17(3), 353-360. Doi: 10.4142/jvs.2016.17.3.353
- Secretaria de Salud, 2017 División jurisdiccional. Consultada el enero 2018
http://www.saludsonora.gob.mx/template/www.saludsonora.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=155
- Straily A, Drexler N, Cruz D, Paddock CD, Alvarez HG. 2016. Notes from the Field: Community-Based prevention of Rocky Mountain Spotted Fever- Sonora, Mexico, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 25:65 (46): 1302-1303. Doi: 10.15585/mmwr.mm6546a6
- Troyo A, Moreira-Soto RD, Calderon-Arguedas O, Mata-Somarribas C, Ortiz-Tello J, Barbieri ARM, Avendaño A, Vargas-Castro L, Labruna MB, Hun L, Tylor L. 2016. Detection of *rickettsiae* in fleas and ticks areas of Costa Rica with history or spotted fever group rickettsioses. *Ticks and Ticks-borne Dis.* 7(6) 1128-1134 Doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.08.009

RESPUESTAS PLÁSTICAS DE CHILE SILVESTRE (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) DE TRES REGIONES DE MÉXICO A TRATAMIENTOS DE DISPONIBILIDAD DE AGUA

César Enrique Romero Higareda, Sergio Hernández Verdugo¹, Antonio Pacheco Olvera²

¹ Director de Tesis, Facultad de Agronomía Universidad Autónoma de Sinaloa, ² Asesor de Tesis, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. cesar_romero_47@uas.edu.mx

RESUMEN

A partir de 24 poblaciones silvestres de tres regiones de México, se formaron familias para someterse a experimentos de invernadero con el propósito de esclarecer las respuestas fenotípicas morfológicas y funcionales luego de ser sujetas a dos tratamientos de disponibilidad de agua. Se encontraron diferencias significativas en la tasa de germinación, días a la floración en las poblaciones, así como amplias diferencias vegetativas, foliares y reproductivas

ABSTRACT

From 24 wild populations of *Capsicum annuum* var *glabriusculum* of three regions in Mexico, families were formed to be tested in greenhouse procedures with the purpose to estimate morphological and functional phenotypic responses to two water availability treatments. Significant differences were found in the germination rate, flowering day, as well as in vegetative, foliar and reproductive traits, among and within populations.

INTRODUCCIÓN

La capacidad de un genotipo de modificar su fenotipo cuando es puesto en diferentes ambientes es conocida como plasticidad fenotípica y la clase de diferentes fenotipos que un mismo genotipo produce en los diferentes ambientes en los cual se desarrolla, es conocida como norma de reacción de este genotipo (Schlichting 1986; Schlichting y Levin 1990). La variación puede ocurrir en rasgos morfológicos, funcionales y reproductivos y es consecuencia de la interacción entre genotipo y el ambiente (Stearns, 1992; Briggs y Walters, 1997; Niklas, 1997; Schlichting y Pigliucci, 1998). Las variaciones fenotípicas influyen directa o indirectamente sobre la adecuación (w), al modificarse en función de las respuestas a la variabilidad ambiental.

El estudio de la variabilidad fenotípica a nivel intra e inter poblacional en una especie pueden representar oportunidades únicas para el análisis de las estrategias ecológicas y evolutivas de una especie, además de proponer y establecer potenciales estrategias de

manejo de un determinado recurso genético. Los análisis a nivel intra-poblacional pueden esclarecer los componentes ecológicos de la *w*. A nivel inter-poblacional, se pueden describir patrones de carácter adaptativo que revelan grupos y estrategias (Venable, 1984). Del mismo modo, se puede estudiar la estructura de las covarianzas entre los rasgos fenotípicos que evolucionan de manera sinérgica cuando éstos se asocian de manera positiva, pero que alcanzan niveles sub-óptimos cuando sus correlaciones son negativas (Venable y Búrquez, 1990).

Se ha demostrado que las poblaciones de plantas que ocupan ambientes muy distintos, están diferenciadas con respecto de muchos de sus rasgos morfológicos, funcionales y reproductivos (Venable y Búrquez, 1989; Daehler *et al.*, 1999).

ANTECEDENTES

El estudio sobre la variación fenotípica tiene una amplia historia. Los primeros trabajos datan desde Linneo (Briggs y Walter, 1997). Estos procesos ocurren en diferentes escalas espaciales (Linhart y Grant, 1996), desde cientos de kilómetros hasta unos cuantos metros (Daehler *et al.*, 1999).

Los factores del ambiente físico más importantes a lo largo de gradientes ambientales incluyen la precipitación, temperatura e irradiación. En general estos factores conforman las respuestas de variabilidad fenotípica en un sentido amplio en cada población. Los elementos bióticos conforman respuestas de variabilidad más fina a nivel poblacional y en muchos casos son elementos fundamentales que controlan el tamaño de la población y la dirección evolutiva (Shorrocks, 1978).

En la síntesis de estudios empíricos y teóricos Farris y Lechowicz (1990) describen tres categorías amplias de rasgos funcionales y morfológicos que son determinantes de la variación fenotípica y que influyen directamente en *w*: 1) rasgos de tamaño y arquitectura, 2) rasgos fisiológicos relacionados a la adquisición de recursos y 3) características de estructuras reproductivas –frutos y semillas-. Para estos dos últimos elementos Primack y Hyesoon (1989) destacan atributos foliares como el área foliar, masa foliar por área y grosor y rasgos morfológicos del fruto y semillas como masa del fruto, número de semillas y masa individual de las semillas respectivamente.

Las especies de plantas generalmente mantienen sustanciales niveles de variación genética, tanto dentro como entre sus poblaciones para un gran número de rasgos que pueden estar sujetos o no a la selección natural. Esta variación puede ser producida por diferencias genéticas o ambientales que abarquen el rango ecológico de la distribución de la especie. Sin embargo, debido a que la mayoría de los hábitats son temporal y especialmente heterogéneos, la capacidad de las plantas para responder a las condiciones cambiantes del ambiente pueden significar un mecanismo adicional que ayude a la sobrevivencia y reproducción de los organismos de una especie (Sultan, 1987).

En el escenario del cambio climático y de la fragmentación generalizada, es pertinente esclarecer respuestas y desarrollo de estrategias de los organismos para confrontar el proceso de degradación de las diferentes poblaciones (Parmesan y Yohe, 2003; Parmesan, 2006) y en específico las especies vegetales (Franks *et al.*, 2013). Relevancia que también se traslada a cuestiones de productividad agrícola y alimentaria (Gornall *et al.* 2010, Harvey *et al.*, 2013). Ha habido poca atención a la evolución de la plasticidad fenotípica en especies que tengan materiales silvestres y domesticados (Schlichting y Levin, 1990) como es el caso del chile (*Capsicum*).

En el marco conceptual descrito, el presente trabajo tiene como propósito en primera instancia explorar mediante experimentos de invernadero las respuestas plásticas morfológicas, funcionales y reproductivas de los individuos de *Capsicum annuum* a través de la estimación de atributos de tamaño, rasgos foliares y variabilidad de frutos y semillas.

La importancia de este estudio, trasciende al esclarecimiento de la naturaleza de las respuestas fenotípicas y de estrategias de historia de vida de *Capsicum annuum*, sino también a la comprensión de la plasticidad fenotípica en el escenario del cambio climático, ya que en muchos casos, esta característica no ha sido considerada o mínimamente valorada para estrategias de conservación o de comprensión de su capacidad de adaptación o respuesta (Nicotra *et al.*, 2010; Nicotra *et al.*, 2014). El efecto añadido de la fragmentación de hábitat puede reducir la capacidad de adaptación y respuestas de las diferentes poblaciones incrementando el riesgo de extinciones locales o empobrecimiento genético de éstas (Jump y Peñuelas, 2005).

JUSTIFICACIÓN

A pesar de que México es uno de los países con mayor diversidad vegetal en el mundo y uno de los principales centros de domesticación de las plantas cultivadas (Harlan, 1971; Hawkes, 1983), los recursos genéticos vegetales para la alimentación y la agricultura, presentes en las poblaciones silvestres y en las variedades criollas o razas locales de las especies de plantas cultivadas, han sido poco estudiados, son desaprovechados y se están erosionando a un ritmo alarmante. El reservorio genético mantenido en los materiales silvestres y en las razas o variedades locales de las plantas cultivadas se está erosionando por dos factores principales: la destrucción o fragmentación del hábitat y por el uso de variedades mejoradas genéticamente.

La deforestación con fines agrícolas y ganaderos es uno de los principales factores del deterioro de la vegetación en México (Leef, 1990). En nuestro país se ha estimado una tasa de deforestación promedio anual de 668 mil hectáreas a partir de la década de 1970. Esto ha conducido a que de las aproximadamente 30,000 especies de plantas vasculares estimadas para México, 4,000 (13.3%) estén bajo alguna amenaza o en peligro de extinción (Masera *et al.*, 1992).

El conocimiento de los factores ambientales que permiten el mantenimiento de las poblaciones vegetales en condiciones naturales es otro aspecto fundamental en el manejo y conservación de los recursos genéticos presentes en las parientes silvestres de las plantas cultivadas.

Los parientes silvestres de una especie vegetal cultivada generalmente mantienen mayores niveles de variación genética en comparación con las plantas cultivadas (Kahler y Allard, 1981; Ellstrand y Marshall, 1985; Doebley, 1989). El conocimiento de los niveles de esta variación genética y su distribución dentro y entre las poblaciones es un aspecto básico para su conservación y aprovechamiento. El estudio de la variabilidad genética intra e interespecífica es de gran importancia para los fitomejoradores, los genetistas de poblaciones, los biólogos evolutivos, y para quienes estamos interesados en el uso, manejo y conservación de los recursos genéticos.

Una razón práctica y de gran importancia económica para estudiar los parientes silvestres y las variedades locales de las plantas cultivadas, es que constituyen un acervo potencial de genes útiles para la solución de problemas agrícolas presentes o futuros, tales como tolerancia y resistencia a plagas o enfermedades, y contribuyen a aumentar la calidad y la cantidad de la producción (Harlan, 1976; Stalker, 1980; Burdon y Jarosz, 1989).

En contraste con estudios previos que indicaron que las accesiones de las especies domesticadas de *Capsicum* y sus parientes silvestres mantienen bajos niveles de variación isoenzimática (MacLeod *et al.*, 1983; Loaiza-Figueroa *et al.*, 1989). Hernández-Verdugo *et al.*, (1998, 2001a) encontraron que las poblaciones silvestres *C. annuum* del noroeste de México mantienen elevados niveles de variación detectada mediante isoenzimas. Las plantas de esas mismas poblaciones también mostraron elevados niveles de variación en características tales como altura de la planta, longitud del fruto, número de semillas por fruto y en la capacidad de germinación de sus semillas y en la resistencia al geminivirus PHV (Hernández-Verdugo *et al.*, 1998, 2001b, c) y al virus del mosaico dorado del chile (Anaya-López *et al.*, 2003). Sin embargo, se desconocen los niveles de variación ecofisiológica y en la plasticidad fenotípica en las poblaciones silvestres y variedades locales o razas criollas de Chile de nuestro país.

Con base en lo anterior se propone un estudio para estimar los niveles de variación la plasticidad fenotípica y su base genética en las poblaciones silvestres y en las variedades locales de Chile (*Capsicum* spp.) del tres regiones de México, que junto con el maíz y el frijol, es una de las plantas cultivadas de mayor importancia en la alimentación y la cultura de la población mexicana.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En este escenario, se tiene que a lo largo de la costa Noroeste del Pacífico, las costas de Oaxaca en el suroeste, así como las planicies costeras del oriente de Tabasco y Yucatán mexicano que compone buena parte de la distribución geográfica de *Capsicum annuum* en

México, sus diferentes poblaciones están expuestas a una marcada variabilidad ambiental en términos de disponibilidad de agua y luz principalmente. Las condiciones de aridez se incrementan conforme aumenta la latitud. No sólo disminuye la disponibilidad de agua a lo largo del gradiente, sino que se incrementa su variabilidad, así como la de la insolación y temperatura, acrecentando con ello la variabilidad en la disponibilidad espacial y temporal de nutrientes, originando una condición equiparable a los ambientes pobres en recursos (Chapin III *et al.*, 1993, Cunningham *et al.*, 1999). Del mismo modo, a lo largo de este gradiente, también se modifican las presiones selectivas de origen biótico que pueden repercutir en última instancia en sus estrategias reproductivas y por ende en su *w*. En este sentido, *Capsicum annuum* representa un caso de estudio que permite explorar hipótesis relacionadas con la evolución de sus respuestas ecológicas y evolutivas, especialmente de sus atributos relacionados con la eficiencia de agua y luz y en sus estrategias reproductivas. Así, podemos formalizar que las diferentes poblaciones de *Capsicum annuum* se han diferenciado de modo significativo dentro del ámbito de su distribución con respecto de los atributos fenotípicos anteriormente descritos en respuesta al cambio gradual de los factores ambientales. Para poder establecer si la diferencias descritas en sus rasgos estructurales, funcionales y reproductivos tienen una base genética, se puede establecer un procedimiento de manipulación de los materiales genéticos –semillas- a través de experimentos de invernadero, sometiendo plantas de diferentes poblaciones a condiciones ambientales regulando la disponibilidad de sus recursos, en este caso particular, la disponibilidad de agua, evaluando las respuestas fenotípicas de sus diferentes tipos de atributos .

HIPÓTESIS

En este marco de referencia se establecen las siguientes hipótesis:

- * Existen diferencias significativas en las tasas de germinación en respuesta a las diferentes presiones selectivas de los sitios de origen
- * Las poblaciones de sitios con menores promedios de precipitación anual y más irregulares tienden a presentar una mayor amplitud en las respuestas fenotípicas.
- * Los atributos foliares de *Capsicum annuum* tienden a reflejar estrategias más conservadoras de agua y nutrientes hacia los sitios más áridos y variables del gradiente, modificando su morfología y atributos fisiológicos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Estimar la variación de la plasticidad fenotípica y las normas de reacción de los materiales silvestres de *Capsicum annuum* de los atributos planteados bajo condiciones experimentales de humedad de suelo controladas en procedimientos de invernadero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la variabilidad y los patrones de respuesta de los atributos foliares asociados a la economía del agua y luz como el área foliar, área foliar específica (AFE), grosor y porcentaje de clorofila.

- Estimar la variabilidad de los rasgos reproductivos de frutos y semillas a través de sus rasgos básicos: masa del fruto, número de semillas, masa promedio de semillas y masa no-reproductiva del fruto.

MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta del material silvestre *Capsicum annuum* var. *grabiusculum* en 24 poblaciones de tres regiones de México (Cuadro 1), permite la formación de familias al colectar de cada planta por separado los frutos, de modo que cada una de las plantas forma una familia. Luego, las semillas seleccionadas de cada planta –familia- se someten a remojo en ácido giberélico (1000 ppm) durante 36 h, posteriormente se dejaron secar durante un periodo de 12 h a temperatura ambiente.

Luego empleando charolas de germinación de poliuretano de 128 cavidades, se colocaron equitativamente en ocho de estas 24 semillas de cada familia, repitiendo en tres charolas. Se utilizó sustrato comercial Sogemix PG-M® preparado con agua destilada. Se examinó el proceso de germinación de manera diaria durante 31 días. Luego de 31 días se procedió a realizar un trasplante, de donde se estimaron la altura de la planta con una precisión de 0.1 cm y el número de hojas verdaderas.

Cuadro 1. Abreviatura, región, Posición geográfica latitud (N), longitud (O), altitud (msnm) de 24 poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* var. *grabiusculum* de México.

Sitio	Abreviatura	Region	Latitud	Longitud (O)	Altitud
Montosa	MTS	NW	29°34'	110°00'	337
Mazocahui	MZC	NW	29°31'	110°05'	554

Presa Oviachic	POV	NW	27°49'	109°53'	582
Cedros	CDR	NW	27°44'	109°18'	392
Buyubampo	BYB	NW	26°37'	108°39'	225
El Mahone	EMHN	NW	29°30'	108°34'	300
Yecorato	YCT	NW	26°20'	108°12'	405
Lo de Vega	LDV	NW	26°11'	108°36'	116
El Pozo	EPZ	NW	24°55'	107°15'	155
Sanalona	SNL	NW	24°47'	107°07'	125
Alcoyonqui	ALQ	NW	24°43'	107°12'	130
Cosalá	CSL	NW	24°24'	106°36'	569
El Roble	ERBL	NW	23°55'	106°53'	35
Temax	TMX	SURESTE	21°08'	88°50'	7
Oriente	OTE	SURESTE	18°21'	93°11'	6
Madero	MDR	SURESTE	18°20'	93°12'	6
Tucta	TCT	SURESTE	18°11'	92°59'	2
Ejido Moté	EMTE	SURESTE	18°02'	93°12'	15
Rancho Habanero	RHBN	SURESTE	17°57'	93°18'	19
Calderón	CLDN	SUR	16°16'	98°06'	119
Cerro Colorado	CCLD	SUR	16°15'	98°04'	152
Majagual	MJG	SUR	16°05'	95°23'	9
Zaachilac	ZCL	SUR	15°58'	95°32'	9
La Parcela	LPRC	SUR	15°49'	96°00'	3

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis inicial comprende el uso de indicadores estadísticos descriptivos. Se ejecutará un análisis de normalidad para cada variable y de ser necesario un proceso de normalización.

RESULTADOS

El análisis de varianza anidado de una vía, describe que existen diferencias significativas entre los diferentes niveles de variación en el tratamiento de germinación (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resumen de análisis de varianza anidado con sitio como fuente de variación y familia como varianza anidada entre sitios para la eficiencia de germinación acumulada de 24 poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* en México.

Fuente de variación	gl	F	P
Sitio	(1,23)	10424.658	0.000
Familia	(23,19)	119.404	0.000
Sitio x Familia	(19,315)	4.102	0.000

Se presentó una amplia variabilidad entre poblaciones para todos los rasgos analizados, no así para el efecto del tratamiento de disponibilidad de agua (Cuadro 2).

Cuadro 3. Valores de *F* y significancia estadística de análisis de varianza de dos vías (Tratamiento x Población) para los rasgos de tamaño, foliares y reproductivos de 24 poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* de tres regiones de México. *** $P < 0.01$, ** $P < 0.05$, ns = no significativo.

	T	P	T X P
Rasgos de tamaño			
Diámetro tallo	0.032 ns	4.902***	1.346 ns
Altura	6.225**	3.446***	1.872***
Rasgos foliares			
Clorofila	0.554 ns	18.262***	2.500***
Grosor foliar	0.020 ns	3.375***	4.018***

Largo de hoja	0.682 ns	13.279***	3.845***
Ancho de hoja	0.062 ns	6.273***	3252***
Forma de hoja	1.336 ns	16.953***	3.786***
Área foliar	0.494 ns	7.957***	3.210***
Área Foliar Específica	0.812 ns	23.054***	1.945***
Rasgos reproductivos			
Floración	56.364***	32.149***	11.257***
Largo de fruto	31.187***	13.924***	6.676***
Ancho de fruto	15.983***	11.775***	5.415***
Masa de fruto	19.641***	5.082***	5.485***

DISCUSIÓN PRELIMINAR

La mayor parte de la variabilidad fenotípica para todos los rasgos descritos se presenta en el nivel de poblaciones, no así en respuesta a los tratamientos y sus interacciones T x P. Los rasgos menos plásticos son los rasgos foliares y en contraste, los más plásticos tanto a la disponibilidad de agua como a la variabilidad entre poblaciones son los rasgos reproductivos. Dado que existe una amplia variabilidad ambiental entre sitios, la naturaleza de las respuestas foliares sugiere que éstas son más conservadoras a la disponibilidad de agua. En cuanto a las respuestas reproductivas, éstas presentan amplias respuestas fenotípicas no sólo a la disponibilidad de agua sino a la variabilidad genética entre sitios.

LITERATURA CITADA

Anaya-López J.L., González-Chavira M., Pons-Hernández J.L., Garzón-Tiznado J.A., Torres-Pacheco I., Rivera-Bustamante R.F., Hernández-Verdugo, S., Guevara-González R.G., Muñoz-Sánchez C.I., Guevara-Olvera, L. 2003. Resistance to gemivirus mixed infections in mexican wild peppers. *Hortscience* 38:251-255.

Briggs D., Walters S.M. 1997. Plant Variation and Evolution. 3rd ed. Cambridge University Press.

- Burdon J.J., Jarosz. A.M. 1989. Wild relatives as sources of disease resistance. En: Brown A.H.D., Frankel O.H., Marshall D.R., Williams J.T. (Eds.). *The use of plant genetic resources*, Cambridge University Press. pp. 280-296.
- Chapin III F.S., Autumn K., Pugnaire F. 1993. Evolution of suites in response to natural stress. *American Naturalist* 142: S78-s92.
- Cunningham S.A., Summerhayes B., Westoby M. 1999. Evolutionary divergence in leaf structure and chemistry: comparing rainfall and nutrient gradients. *Ecology* 69(4): 569-588.
- Daehler C.C., Anttila C.K., Ayres D.R., Strong D.R., Bailey J.P. 1999. Evolution of a new ecotype of *Spartina alterniflora* (Poaceae) in San Francisco Bay California USA. *American Journal of Botany* 86(4): 543-546.
- Doebley J. 1989. Isozymic evidence and evolution of crop plants. En: Soltis E. D., Soltis P. M. Eds. *Isozymes in Plant Biology*. pp. 165-191. Dioscorides, Portland Oregon.
- Ellstrand N.C., Marshall D.L. 1985. The impact of domestication on distribution of allozyme variation within and among cultivars of radish, *Raphanus sativus* L. *Theoretical and Applied Genetics* 69:393-398.
- Eshbaugh W.H. 1980. The taxonomy of the genus *Capsicum* (Solanaceae). *Phytologia* 47:153-166.
- Farris M.A., Lechowicz M.J. 1990. Functional interactions among traits that determine reproductive success in a native annual plant. *Ecology* 71(2): 548-557.
- Franks S.J, Weber J.J., Aitken S.N. 2013. Evolutionary and plastic responses to climate change in terrestrial plant populations. *Evolutionary Applications* 7(1): 123-139 DOI:10.1111/eva.12112.
- Gornall B., Betts R., Burke E., Clark R, Camp J., Willet K., Wilshire A. 2010. Implications of climate change for agricultural productivity in the early XXI century. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 365: 2973-2989.
- Harlan J.R. 1976. Genetics resources in the wild relatives of crops. *Crops Science* 16:329-333.
- Harvey C.A., Chacón M., Donatti C.I., Garen E., Hannah L., Andrade A., Bede L., Brown D., Calle A., Chará J., Clements C., Gray E., Hoang M.H., Minang P., Rodríguez A.M., Seeberg-Elverfeldt C., Semro B., Shames S., Smukler, S., Somarriba E., Torquebiau E., van Etten J., Wollenberg E. 2013. Climate-smart landscapes opportunities and challenges for integrating adaptation and mitigation in tropical agriculture. *Conservation Letters* 7(2): 77-90.
- Hernández-Vedrdugo S., Guevara-González R.G., Rivera-Bustamante R.F., Vázquez-Yañez C. & Oyama K. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum* spp.) como recursos genéticos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 62:171-181.

- Hernández-Verdugo S., Luna-Reyes R., Oyama K. 2001a. Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Mexico. *Plant Systematics and Evolution* 226: 129-142.
- Hernández-Verdugo S., Oyama K., Vázquez-Yanes. 2001b. Differentiation in seed germination among populations of *Capsicum annuum* along a latitudinal gradient in Mexico. *Plant Ecology*. 155: 245-257.
- Hernández-Verdugo S., Guevara-González R.G., Rivera-Bustamante R.F., Oyama K. 2001c. Screening wild plants of *Capsicum annuum* for resistance to pepper huasteco virus: presence of viral DNA and differentiation among populations *Euphytica*. 122: 31-36.
- Jump A.S., Peñuelas J. 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8: 1010-1020.
- Kahler A.L., Allard R.W. 1981. Worldwide patterns of genetic variation among. Four esterase loci in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 59:101-111.
- Leaf E. 1990. Medio ambiente y desarrollo. Prefacio Sobre Problemática Ambiental en: México. Vol. 1. México D.F.
- Linhart Y.B., Grant M.C. 1996. Evolutionary significance of local differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 237-277.
- Loaiza-Figueroa F., Ritand K. Laborde-Cansino J.A., Tanksley S.D. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant Systematics and Evolution* 165:159-188.
- McLeod M.J., Guttman S.I., Eshbaugh W.H., Rayle R.E. 1983. An electrophoretic study of evolution in *Capsicum* (Solanaceae). *Evolution* 37:562-574.
- Masera, O. Ordóñez J., Dirzo R. 1992. Carbon emissions and sequestration in forest: case studies from seven developing countries. Vol. 4: *Carbon emissions from deforestation in Mexico: Current situation and long-term scenarios*. Environmental Protection Agency, Climate Change Division and Lawrence Berkeley Laboratory, Energy and Environmental Division, Berkeley.
- Nicotra A.B, Atkin, O.K., Bonser, S.P., Davidson A.M., Finnegan E.J., Matheusis U., Poot P., Purugganan M.D., Richards C.L., Valladares F., van Kleunen M. 2010. Plant phenotype in a changing climate. *Trends in Plant Science* 12: 684-692.
- Nicotra A.B, Beever E.A., Robertson A.L, Hofmann G.E., O'Leary J. 2014. Assessing the components of adaptive capacity to improve conservation and management efforts under climate change. *Conservation Biology* 0: 1-11 DOI: 10.1111/cobi.12522.
- Niklas K.J. 1997. *The Evolutionary Biology of Plants*. The University of Chicago Press. Chicago Illinois.

- Parmesan C., Yohe G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421: 37-42.
- Parmesan C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology and Systematics* 37: 637-669.
- Primack R.B., Hyesoon K. 1989. Measuring fitness and natural selection in wild plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 20: 367-376.
- Schlichting C.D. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 17:667-693 DOI: 10.1146/annurev.es.17.110186.003315.
- Schlichting C.D., Levin D.A. 1986. Phenotypic plasticity: an evolving plant character. *Biological Journal of the Linnean Society*.29: 37-47.
- Schlichting C.D., Levin D. A. 1990. Phenotypic plasticity in Phlox. III. Variation among natural populations of *P. drummondii*. *Journal of Evolutionary Biology*3:411-428.
- Schlichting C.D., Pigliucci M. 1998. Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland Massachusetts.
- Shorrocks B. 1978. The Genesis of Diversity. Hodder y Stoughton ed. England.
- Stalker H.T. 1980. Utilization of the wild species for crop improvement. *Advances In Agronomy*33:717-724.
- Stearns SC. 1992. The Evolution of Life Histories. Oxford University Press.
- Sultan S.E. 1987. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology* 21: 127-178.
- Venable, D.L. 1984. Using intraspecific variation to study the ecological significance and evolution of plant life histories, en: *Perspectives on Plant Population Ecology*. Dirzo R. & Sarukhán J. eds. Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Venable D.L. y Búrquez A. 1989. Quantitative genetics of size, shape, life history and fruit characteristics of the seed heteromorphic *Heterosperma pinnatum* I. Variation within and among populations. *Evolution* 43(1): 113-124.
- Venable D.L. y Búrquez A. 1990. Quantitative genetics of size, shape, life history and fruit characteristics of the seed heteromorphic composite *Heterosperma pinnatum* II. Correlations structure. *Evolution* 44(7): 1748-1763.

TEMPERATURA Y PRESIÓN OSMÓTICA DEL CRECIMIENTO *in vitro* DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Kynzú Berenice Castro Valdez¹, Carlos Alfonso López Orona², Mitzi Dayanira Estrada Acosta², Tomás Díaz Valdés², Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz² y Felipe Ayala Tafoya².

¹Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ²Profesor e Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa. A.C. Autores para correspondencia: kynzuberenice@gmail.com y clopezorona@uas.edu.mx.

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más consumidas en el mundo y es atacada por numerosas enfermedades, entre las cuales, está la marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El patógeno, por ser habitante del suelo, es difícil de manejar. Una vez el suelo se infesta puede permanecer con el patógeno por tiempo indefinido. Debido al cultivo sucesivo de tomate en el mismo lugar, la población del hongo aumenta y, por ende, la incidencia de la enfermedad. Aún no se han establecido umbrales de daño económico ni sistemas de predicción, pero se conocen algunas condiciones del suelo y bajo distintas temperaturas, se puede disminuir la incidencia de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en medios sólidos y líquidos. Para los medios sólidos se sembró (Fol) en PDA con adición de 2 tipos de sales (KCl y NaCl) y seis presiones osmóticas diferentes (0, 13.79, 41.79, 70.37, 99.56, 114.54 bares) posteriormente se incubaron a 15°, 25° y 35°, a los 4 días de incubación se realizó medición perpendicular considerándose como resultado la media de las 5 repeticiones, para los medios líquidos se realizaron lavados con las mismas concentraciones de presiones osmóticas en medios previamente cultivados en PDA+KCl, se realizaron pruebas de germinación conídica y conteo de esporas a las 0, 24 y 48 horas. Se utilizará un diseño bloques al azar con arreglo factorial.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most consumed vegetables in the world and is attacked by numerous diseases, including the vascular wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The pathogen, being an inhabitant of the soil is difficult to manage. Once the soil is infested, it can remain with the pathogen indefinitely. Due to the successive cultivation of tomato in the same field the population of the fungus increases and, consequently, the incidence of the disease. The objective of this study was to analyse the effect of temperature and osmotic pressure on the *in vitro* growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in solid and liquid media. For the solid media was sown (Fol) in PDA with addition of 2 types of salts (KCl and NaCl) and six different osmotic pressures (0, 13.79, 41.79, 70.37, 99.56, 114.54 bars) were subsequently incubated at 15 °, 25 ° and 35 °, at 4

days of incubation was carried out perpendicular measurement considering as a result the average of the 5 replicates, for the liquid means were washed with the same concentrations of osmotic pressures in previously cultivated media in PDA+KCl, Conídica germination and spore count tests were performed at 0, 24 and 48 hours. A random blocks design will be used with factorial arrangement.

INTRODUCCIÓN

Según la FAO (2016), el 52 % de la superficie destinada al cultivo de tomate en 2013 se concentró en cuatro países: China (20.9 %), India (18.8 %), Turquía (6.6%) y Nigeria (5.8 %). México ocupa la décima posición mundial, con el 1.9 % de la superficie cosechada de esta hortaliza.

La producción de tomate en México creció a una tasa promedio anual de 3.3 % entre 2005 y 2015, para ubicarse en 3.1 millones de toneladas. Durante ese período, la superficie total destinada a este cultivo disminuyó a una tasa promedio anual de 3.8 %. En 1980 se sembraron 85,500 ha, en el 2000 se sembró un área de 75,900 ha y en 2015 la superficie establecida fue 50,596 ha. La producción de éste cultivo está altamente concentrada; en 2015 cinco entidades produjeron el 54.1 % del total nacional, de los cuales Sinaloa aportó el 27.4 %, Michoacán y San Luis Potosí con 7.2%, Baja California contribuyó con 7.1% y Jalisco con 5.2%. En el mismo año, el 51 % de la cosecha se obtuvo durante el ciclo Primavera-Verano (P-V) y el 49 % en el ciclo Otoño-Invierno (O-I) (FIRA, 2016)

En Sinaloa el cultivo se establece principalmente en los municipios de Ahome, Culiacán y Guasave. En el Estado se siembran aproximadamente 19,000.00 ha, con una producción de 1, 424,571 toneladas, y un valor de poco más de 3.5 millones de pesos, lo que significa una importante fuente de empleos y divisas para esta zona (SIAP, 2017)

La exportación de este cultivo a los Estados Unidos de América, genera anualmente ganancias mayores a un millón de dólares. Sin embargo, Medina-Ríos (2011) menciona que en los últimos años la superficie dedicada al cultivo de tomate tuvo un decremento gradual debido a diversos factores; entre ellos, la incidencia creciente de plagas y enfermedades. Dentro de esta última, en la región, los problemas son principalmente de origen fungoso los cuales provocan grandes pérdidas de rendimiento y calidad de la cosecha como el caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Este patógeno se caracteriza por su potencial destructivo, su facilidad de propagación local y persistencia en el suelo. Esta enfermedad está identificada como una de las más devastadoras en todas las regiones del mundo donde se cultiva tomate (Marlatt *et al.*, 1996)

Según Booth (1971), los hongos del género *Fusarium* tienen una amplia distribución en el mundo y una gran importancia desde el punto de vista agrícola y económico. Su ocurrencia es cosmopolita y las diversas especies son comunes en el suelo, en el aire y en el agua. Diversas especies de *Fusarium* tienen una gran capacidad de causar enfermedades en distintos tipos de cultivos. Algunas especies pueden causar infecciones y otras pocas producen toxinas; todas afectando al hombre y animales. Las enfermedades de las plantas

ocasionadas por especies del género *Fusarium* consisten en marchitamientos vasculares, manchas y añublos de las hojas, pudrición de raíces y de tallos, pudrición de frutos, granos y semillas (Nelson, 1990)

Aspectos Biológicos y Patológicos de la Especie *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es una especie de gran importancia fitopatológica, con mayor número de plantas hospedantes y que causa considerable daño económico. La especie tiene la capacidad de atacar un gran número de plantas de importancia agrícola y ocasiona principalmente marchitamientos vasculares, seguidos de la muerte de la planta (Nelson, 1990). Algunas especies pueden provocar pudrición de corona y raíces de algunas plantas.

Variación de los Hongos del Género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*

Una de las dificultades encontradas para la identificación de las especies es la frecuente variación analizada en las características culturales de las colonias del hongo y en el tamaño de las esporas tanto del género *Fusarium*, como de la especie *F. oxysporum*. Una de las posibilidades de modificar diversos aspectos patológicos es mediante la ocurrencia de mutaciones, pero la frecuencia observada en las formas especiales de *F. oxysporum* es muy baja. La recombinación genética examinada en la especie *Fusarium oxysporum* es bastante baja, ya que no se le conoce fase sexual y, por lo tanto, no se presenta recombinación genética por este método de reproducción (Kistler, 1997).

Marchitamiento vascular del tomate por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

El ciclo de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* se inicia con la presencia del inóculo en el suelo o en residuos de cosecha. El inóculo es constituido por hifas, esporas o clamidiosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate. La marchitez del tomate se debe a que el hongo invade la planta bien sea de forma activa a través de las raíces o pasivamente a través de orificios en la zona callosa esquejes jóvenes. Después de la penetración el patógeno se desarrolla dentro del sistema vascular de la planta. Los vasos, en especial del xilema son bloqueados y destruidos de manera que el transporte del agua y nutrientes del mismo se dificulta, que conduce al marchitamiento parcial o total de la planta. El micelio que desarrolla en las lesiones de la base del tallo, genera una gran cantidad de conidios que son diseminados por el viento y el agua para iniciar nuevos puntos de infección (Haglund y Kraft, 2001).

Efecto de la salinidad en el suelo sobre el género *Fusarium*

El estrés hídrico implica un debilitamiento de las plantas debido a un aporte inadecuado de agua, aunque su causa no es únicamente la falta del elemento líquido. Es decir, de cómo retienen el agua las diferentes partículas que componen el suelo y de cuantos solutos están disueltos en la solución acuosa libre del suelo, siendo ambos negativos.

El potencial hídrico de las células vegetales es la suma del potencial osmótico (negativo) y del potencial de presión, que puede ser positivo o negativo.

En relación a los hongos, el potencial del agua será la suma del potencial osmótico y de turgencia.

En cuanto a los efectos restrictivos sobre el crecimiento del patógeno. Existe una estrecha relación entre la influencia del potencial hídrico sobre la enfermedad y su influencia sobre el crecimiento del patógeno (Cook y Papendick, 1970). Patógenos vasculares como *F. oxysporum* (Papendick *et al.*, 1971) parecen tener la capacidad de crecer a potenciales menores de -100 bares.

Es de sobra conocido el efecto perjudicial que las condiciones de alta salinidad presentes en el suelo o en el agua de riego tienen sobre el desarrollo normal de las plantas. El estrés salino es uno de los principales factores negativos a los que están sometidas las raíces de las plantas, la toxicidad se produce como consecuencia de la absorción y acumulación de iones salinos. Los iones Na⁺ o Cl⁻ pueden acumularse en las hojas, raíces y otros tejidos de las plantas afectando gravemente las reacciones metabólicas, así como propiciando la aparición de manchas necróticas o necrosis marginales de las hojas (Bernstein, 1969)

HIPÓTESIS

La salinidad y la temperatura tienen un efecto en el crecimiento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* así como en la germinación y viabilidad de sus esporas, viéndose afectados diferencialmente por el potencial osmótico del medio.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICO

General:

- Analizar la influencia de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Específico:

- Conocer el efecto de la salinidad en la germinación y viabilidad de las esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- Analizar el efecto de la temperatura en el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Se realizará un muestreo dirigido (Krebs, 1998) en predios cultivados con tomate en el estado de Sinaloa, ubicado a los 25° 00' 10" de latitud norte y a los 107° 30' 10" de longitud oeste, el cual tiene una altitud máxima de 2800 msnm.

Aislados utilizados en los ensayos de salinidad y temperatura

Se utilizaran cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de raza 1, 2 y 3, procedentes de los muestreos en predios comerciales de tomate del estado de Sinaloa durante el ciclo otoño-invierno 2016-2017. Además se utilizaran, como testigos, cepas de *Fusarium oxysporum* saprofitas, es decir que se alimentan de pura materia orgánica muerta.

Medios de cultivo utilizados en laboratorio

El medio de cultivo empleado para el estudio del crecimiento de los distintos aislados será PDA (patata, dextrosa, agar), tanto puro como modificado por la adición de distintas cantidades de NaCl y KCl para conseguir determinadas presiones osmóticas. (Cuadro 1). Dichas presiones se basan en la propuesta de BESRI (Besri, 1981)

Cuadro 1. Relaciones entre el potencial osmótico del medio ($\psi\pi$) y las concentraciones de NaCl y KCl.

$\psi\pi$ en bares	Cantidad de producto (g L ⁻¹ de PDA)	
	NaCl (2)	KCl (2)
-1.50 (1)	0.0	0.0
-13.79	17.6	22.2
-41.70	52.0	68.8
-70.37	84.8	112
-99.56	115.2	152.8
-144.54	156.6	212.5

(1) COOK (1973)

(2) JAKOBSEN *et al.*, (1972)

Los valores del potencial osmótico del agua (ψ) se obtienen por la fórmula:

$\psi = (RT/V) \cdot \text{Log } a_w = 10,6T \cdot \text{Log } a_w$ siendo: R: constante de los gases perfectos

V: volumen de 1 mol de agua T: temperatura a_w: actividad del agua

Estudio del crecimiento micelial

Cada uno de los aislados, previamente identificados, se replicará del medio selectivo Komada (Tello *et al.*, 1991) a medio PDA. Se incubaran en cámara a 25° C y oscuridad. Se repetirá de nuevo la operación de repicado y se incubaran 2 placas de cada uno de los aislados entre 7 y 14 días, hasta tener un tamaño suficiente para poder tomar 6 discos de 1 cm de diámetro de cada una de las colonias.

Cada presión osmótica será ensayada a las tres temperaturas. Para ello se sembrarán discos, de 1 cm de diámetro de cada aislado, 5 placas (5 repeticiones), más una placa control sin sal.

Una vez sembrados los aislados, las placas Petri se introducirán en estufa y oscuridad a las temperaturas ensayadas (15, 25 ó 35° C) durante 4 días.

De esta manera se valoraran 2 sales (NaCl y KCl) con 5 presiones osmóticas distintas, más el testigo sin sal, a 3 temperaturas.

Medición del crecimiento

Transcurridos los 4 días, las placas se extraerán de la cámara y se medirá el tamaño de la colonia. Para ello se tomarán dos diámetros perpendiculares y se medirán con regla graduada de 1 mm de precisión.

Se considerará crecimiento micelial en cada una de las placas a la media aritmética de dichos diámetros, restando el diámetro del disco sembrado (1 cm).

Se tomará como medida del crecimiento de cada uno de los aislados, para cada combinación de temperatura y salinidad, la media aritmética de las 5 repeticiones.

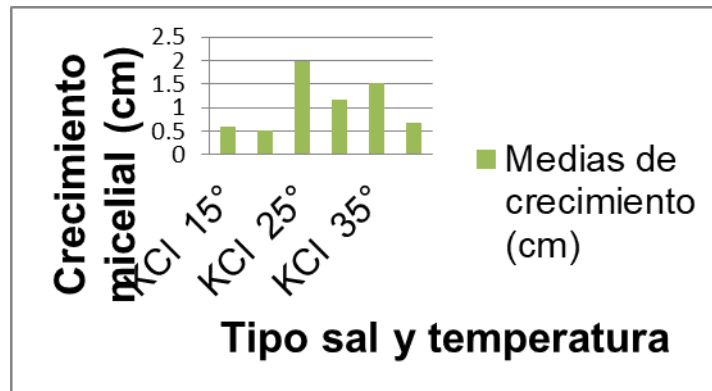
Diseño experimental y análisis de datos

Se establecerá un diseño completamente al azar donde cada temperatura y presión osmótica será evaluada con cinco repeticiones.

Los datos obtenidos serán sometidos a una prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas. Posteriormente, se realizará un análisis de varianza (ANOVA), y en caso necesario una prueba de comparación de medias Tukey $p \leq 0,05$, los análisis se realizarán con el paquete estadístico SAS 9.0.

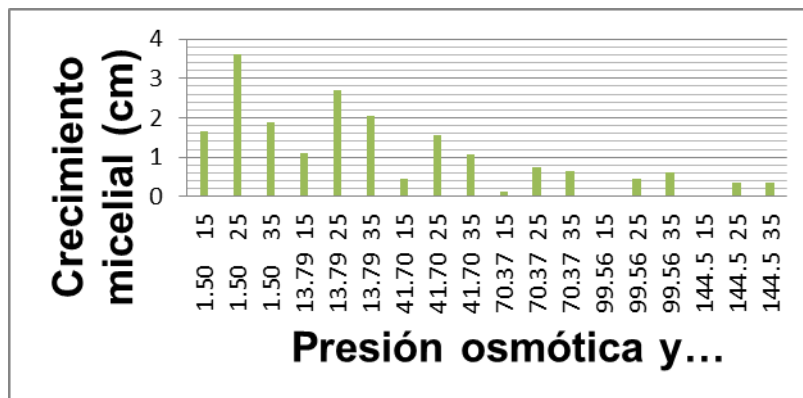
RESULTADOS

Crecimiento micelial en función de sal y temperatura



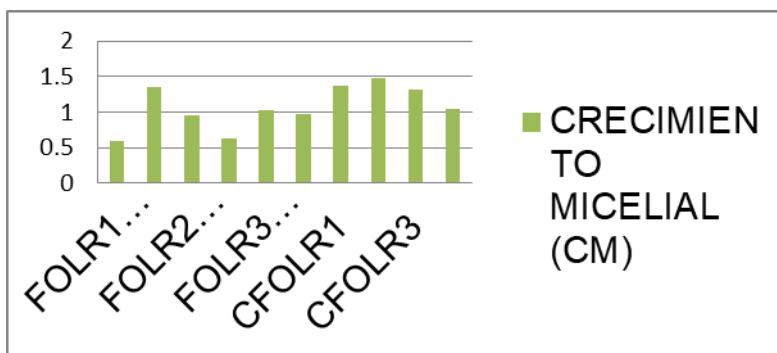
CONCLUSIÓN: Entre el NaCl a 35° y a los 15° en ambas sales no existe diferencia significativa entre ellas, a su vez KCl a 35° y NaCl a 25° son diferentes entre sí, sin embargo el KCl a 25°C es el tratamiento que influye significativamente en el crecimiento micelial del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Crecimiento micelial en función de presión osmótica y temperatura



CONCLUSIÓN: En las presiones 70.37, 99.56 y 144.50 no existe diferencia significativa entre ellas, a su vez la presión 70.37 y 41.70 son iguales entre sí, la presión 13.79 difiere de todas las anteriores y de la 1.50, siendo ésta (1.50) la presión osmótica que influye significativamente en el crecimiento micelial del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Crecimiento micelial por cepa



CONCLUSIÓN: La cepa que presentó mayor crecimiento micelial del hongo *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue la CFOLR2, siguiéndole CFOLR1, CFOLR3 y R1(-) sin diferencia significativa entre ellos, la cepa que tuvo menor crecimiento fue la R1(+)

LITERATURA CITADA

- Besri, M. 1980. Influence du potentiel osmotique de l'eau sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f sp *lycopersici* et de *Verticillium dahliae*. *Phytopathologische Zeitschrift* 99:1-8.
- Besri, M. 1981 b. Qualité des sols et des eaux d'irrigation sur et manifestation des trachéomycoses de la tomate au Maroc. *Phytopathologia. Mediterranea*. 20:107-111.
- Bernstein, L. 1969. Salinity factors and their limits for citrus culture. *Proc. Int. Citrus Symp.* 1st. 3: 1779-1782.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Ed. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, England. 237 p.
- Cook, R.J. and R.I. Papendick. (1970). *Effect of soil water on microbial growth, antagonism, and nutrient availability in relation to soil-borne fungal diseases of plants*. In: Tousson, T.A.; Bega, R.V. and Nelson, P.E. (Eds.). *Root diseases and soil-borne pathogens*. 2nd International Symposium on Factors Determining the Behavior of Plant Pathogens in Soil. London, England. Imperial College, July 14-28 1968. University of California. Berkeley, California, USA. p. 8188.
- Cook, R.J. 1973. Influence of low plant and soil water potentials on diseases caused by soilborne fungi. *Phytopathology* 63: 451-458.
- FAO, 2016. Panorama Agroalimentario Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial Tomate rojo 2016 www.faostat.fao.org (Consulta, octubre 2017).
- FIRA, 2016. Panorama Agroalimentario Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial Tomate rojo 2016. www.fira.gob.mx (Consulta, octubre 2017).
- Haglund, W.A.; Kraft, J.M. 2001. *Fusarium wilt*. En: Kraft, J.M. ; Pflieger, F.L. (ed.). *Compendium of Pea Diseases and Pests*. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA 14-16-84 pp.

- Jakobsen, M., O. Filtenborg and F. Bramsnaes. 1972. Germiation and outgrowth of the bacterial spore in the presence of different solutes. *Lebensm Wiss u Technol* vol 5 n°5:159-162.
- Kistler H.C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 84: 474-479.
- Krebs, C. J. 1998. *Ecological methodology*. 2ed. Benjamin Cummings. California, EE. UU. 620 pp.
- Leslie J. F and Summerell B. A. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing Ltd. 2006.
- Marllat, M., Correll, J., y Kaufman, P. 1996. Two Genetically Distinct Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 in the United States. *Plant Disease*, 80, 7.
- Medina-Ríos, M. 2011. Inducción de Resistencia a *Fusarium oxysporum* y Estimulación del Desarrollo Vegetal en Jitomate (*Solanum lycopersicon*) Empleando *Methylobacterium* spp. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIRIPN-MICHOACÁN. Jiquilpan, Michoacán, México. 69 pp.
- Nelson, P.E. 1980. *Life cycle and epidemiology of Fusarium oxysporum*. En M.E. Mace, A.A. Bell and E.H. Beckman (eds.). *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press. New York. p. 51-80.
- Papendick, R.I., R.J. Cook and P.J. Shipton. (1971). *Plant water stress and the development of Fusarium foot rot in wheat*. *Phytopathology* 61: 905.
- SIAP, 2017. Boletín mensual de la producción tomate rojo (jitomate) www.siap.gob.mx (Consulta, octubre 2017)
- Tello, J. C., F. Varés y A. Lacasa. 1991. Análisis de muestras. En: *Manual de laboratorio: Diagnostico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. M.A.P.A. Madrid. 39-48.

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN RATONES, POR INMUNIZACIÓN CON LA PROTEÍNA VIRB9 de *Anaplasma marginale*

Iribe Zazueta Alberto¹, Idalia Enríquez Verdugo¹, Soila Maribel Gaxiola Camacho¹,
Nohemí Castro del Campo¹

Doctorado en Ciencias Agropecuarias

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.

iribealberto2@gmail.com

RESUMEN

Anaplasma marginale es una bacteria Gram-negativa del genogrupo II de las *Ehrlichias* del orden *Rickettsiales*, pertenece a la familia *Anaplasmataceae*, género *Anaplasma* y especie *marginale*. *A. marginale* es causante de la Anaplasmosis bovina, notable. Causa pérdidas económicas significativas en las áreas tropicales y subtropicales del mundo. Se han identificado 949 proteínas en el genoma de 30 cepas de *A. marginale*, el análisis promueve la búsqueda de antígenos conservados en aislados de regiones geográficas donde se presenta la enfermedad, por lo cual el objetivo del presente estudio es evaluar la actividad protectora de la respuesta inmune humoral del inmunógeno VirB9 de *Anaplasma marginale* en modelo murino como candidato a vacuna. Hasta el momento se obtuvo la amplificación y secuenciación del gen *virb9* para la clonación.

ABSTRACT

Anaplasma marginale is a Gram-negative bacterium of genogroup II of the Ehrlichias of the order Rickettsiales, belongs to the family Anaplasmataceae, genus *Anaplasma* and species *marginale*. *A. marginale* causes Bovine Anaplasmosis, notable. It causes significant economic losses in the tropical and subtropical areas of the world. A total of 949 proteins have been identified in the genome of 30 strains of *A. marginale*. The analysis promotes the search for conserved antigens in geographic regions where the disease is present. Therefore, the objective of this study is to evaluate the protective activity of Humoral immune response of *Anaplasma marginale* VirB9 immunogen in mice model as vaccine candidates. So far, the amplification and sequencing of the *virb9* gene for cloning was obtained.

INTRODUCCIÓN

Anaplasma marginale es una bacteria Gram-negativa del genogrupo II de las *Ehrlichias* del orden *Rickettsiales*, pertenece a la familia *Anaplasmataceae*, género *Anaplasma* y especie *marginale*. Son bacterias intracelulares obligadas que parasitan los eritrocitos de los vertebrados (Dumler *et al.*, 2001; Rymaszewska, *et al.*, 2008) y es causante de la Anaplasmosis bovina, la enfermedad clínica más notable en bovinos (Aubry y Geale, 2011). La cual causa pérdidas económicas significativas en las áreas tropicales y subtropicales del mundo (Inokuma, 2007). La vacunación representa la mejor opción para el control de esta

enfermedad, y aunque actualmente existen vacunas inactivadas y atenuadas, estas presentan riesgos que limitan su efectividad (Rodríguez., 2009). Una de las limitaciones de las vacunas inactivadas está dada por la amplia diversidad antigénica que presentan aislados de regiones geográficas distantes (de la Fuente *et al.*, 2009; Jiménez *et al.*, 2008). La búsqueda de antígenos conservados en aislados de regiones geográficas donde se presenta la enfermedad, ha dado lugar a la utilización de nuevos avances tecnológicos, los cuales han generado el descubrimiento de nuevas proteínas de *A.marginale* entre ellas VirB9, estas deben ser estudiadas con el propósito de desarrollar un inmunógeno eficaz para controlar las infecciones de la enfermedad y disminuir las pérdidas económicas. Por lo cual el objetivo del presente estudio es evaluar la actividad protectora de la respuesta inmune humoral del inmunógeno VirB9 de *Anaplasma marginale* en modelo murino como candidato a vacuna.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A. marginale es un organismo que utiliza la variación antigénica como método de evasión del sistema inmune, esto dificulta su control por medio de vacunas, ya que este microorganismo tiene un alto grado de diversidad genética

HIPÓTESIS

La proteína VirB9a del SSTIV de *Anaplasma marginale*, causa en ratones vacunados una respuesta capaz de resistir la infección por cepas virulentas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad protectora de la respuesta inmune humoral del inmunógeno VirB9 de *Anaplasma marginale* en modelo murino como candidato a vacuna.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Expresar VirB9 de *A. marginale*
- Evaluar las clonas VirB9 como inmunógenos en el modelo murino.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se está realizando en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa (FMVZ/UAS). Se trabaja con muestras positivas a *Anaplasma marginale*, identificadas por PCR. Para amplificar el PCR de VIRB9 se utilizaron los oligonucleótidos específicos Directo:5'-ATGAATTTCTATAAAAAGTTGCTTGCG e Inverso: 5'CTAAAGCACCGTATTCACACTTTCGAC en un termociclador (Techne model TC-512), por 35 ciclos. El proceso se lleva a cabo primeramente precalentando la mezcla por 3 min a 94°C, las temperaturas de desnaturalización es de 94°C por 30 s, la alineación a 52°C por 45 s y la extensión a 72°C por 90 s, con una extensión final de 72°C por 10 min (Jiménez *et al.*, 2009). El producto de PCR se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, observando el tamaño del fragmento amplificado (859 pb) por comparación con marcadores de tamaño (1 Kb DNA ladder), (Sambrook, 1989; Jiménez *et al.*, 2009; Corona *et al.*, 2005). se purificaron los genes a partir de PCR se cortaron las bandas del tamaño de 840 pb correspondiente al gen y se purificaron a través de columna por medio de un kit (QIAquick Gel Extraction kit, QUIAGEN). La clonación se realizará a partir del producto del gen puro (3

μl), se añadirá solución salina (1 μl), agua (1 μl) y Vector TOPO® (1 μl), se mezclará la reacción y se incubará 30 min a temperatura ambiente. La transformación se realizará añadiendo 2 μl de la reacción anteriormente descrita a un vial de células competentes de *E. coli*, se mezclarán suavemente y se incubarán en hielo por 30 min, después se realizará un choque-térmico por 30 s a 42°C, sin agitación, se transferirán inmediatamente al hielo. Después se colocan en 250 microlitros de medio S.O.C. a temperatura ambiente y se incubarán a 37°C durante 1 hr a 200 rpm, se colocarán 20 microlitros en una placa de agar con medio selectivo y se incubarán a 37°C por toda la noche. Se escogerán colonias blancas, ya que son positivas (Siah, 2007). Los genes clonados serán seleccionados en las colonias positivas que se crecerán en medios selectivos e IPTG para la expresión de las proteínas. Estas clonas positivas se cosecharán a 2,500 x g 15 min a 4°C, se lavarán, se suspenderán en amortiguador, se fraccionarán con un sonicador al 50% de capacidad máxima, con 6 ciclos de 60 s con descanso de 30 s, en baño de hielo, los desechos se separarán a 2500 x g 20 min y en el sobrenadante se obtendrán las proteínas totales de la bacteria (antígenos totales). Los antígenos recombinantes se separarán por SDS-PAGE al 10% y se observarán al teñirse con azul de coomassie (Rapp *et al.*, 1986). Se inmunizará por vía sub-cutánea 1 grupo de 7 ratones machos, aproximadamente de 3-6 meses, con 1 ml a una sola dosis de 1X10⁸ de ufc/ml de la clona. Teniendo 2 grupos control de 7 ratones de las características anteriormente descritas, grupo control 1: con amortiguador (PBS) y grupo control 2: con una bacterina de *A. marginale*.

Se colectarán sueros en las semanas 1, 3, 5, 7 y 9 y se realizará evaluación de anticuerpos. A las 9 semanas de postvacunación los animales serán expuestos a una infección experimental con una cepa de *Anaplasma marginale* de bovinos de la región de Culiacán, Sinaloa, a una dosis de 1X10⁸ ufc/ml de solución salina más hidróxido de aluminio (50%), por vía sub-cutánea. A los 3, 5, 7 y 9 semanas post-desafío. Después los ratones serán sacrificados humanitariamente, se realizará la necropsia. Para comparar la protección entre grupos ante el desafío experimental se realizará un ANOVA y prueba de t con una significancia de 0.05 (Visser *et al.*, 1992; Palmer *et al.*, 1999; De la fuente *et al.*, 2005a). A los sueros colectados se les realizará la evaluación de los anticuerpos (IgG) por medio de Elisa indirecto para medir la respuesta inmune humoral (De la fuente *et al.*, 2005b). Para comparar la protección entre grupos ante el desafío experimental se realizará un ANOVA y prueba de t con una significancia de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Por el método de fenol-cloroformo obtuvimos 30 muestras de ADN, este método resultó adecuado ya que al ser observadas por luz ultravioleta las bandas demuestran un ADN íntegro, debido a que no exhiben degradación, sin embargo presentan proteína y no se observa ARN, además se obtuvo excelente concentración de ADN. Estos resultados coinciden con el trabajo que realizaron Fraga *et al.* (2004), donde indican que el método fenol-cloroformo presenta pureza de 1.96% y concentración de 100 mg/kg. En otros estudios realizados por Molad *et al.* (2006), y Jiménez *et al.* (2009), utilizaron el kit de extracción QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN, USA), en donde utilizan el ADN obtenido directamente para el PCR sin comprobar su pureza, sin embargo Betina *et al.*, en 2000,

describieron que la pureza del kit comercial es de 0.84 ± 0.4 . La amplificación del gen *msp5* de *Anaplasma marginale* se observó aproximadamente a 458 pb. El amplicón del gen coincide en el tamaño descrito por otros autores como Corona *et al.*(2011); Elizalde *et al.*(1998); Reyna *et al.*(1998) y Palmer *et al.*(1984). Lo cual confirma que *msp5* es un gen altamente conservado en *A.marginale*. La amplificación del gen *virB9* de *Anaplasma marginale* se mostró aproximadamente a 859 pb. En un trabajo realizado por López *et al.*(2005), identificaron 21 proteínas de membrana externa entre ellas Virb9, utilizando la técnica de espectrofotometría de masas. Otro trabajo realizado por Araujo *et al.* (2008), amplificó *virB9* a un tamaño de 840 pb lo cual indica que es un gen conservado en distintas regiones geográficas. López *et al.*(2007), compararon los genes de *virB9* y *virB10* de *A. marginale* cepas St. Maries y Florida encontrando 100% de identidad, pero al comparar *virB10* de *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis*, *E. canis* obtuvieron el 60%, 51%, y 51% de identidad.

CONCLUSIONES

Hasta el momento la identificación y caracterización del gen *virb9* de la membrana externa del sistema de secreción tipo IV de *Anaplasma marginale*. Indica que dicho gen es conservado a los distintos descritos por el banco de genes

LITERATURA CITADA

- Aubry P., Geale D.W. 2011. A review of bovine anaplasmosis. *Transbound Emerg Dis* 58 (1): 1 – 30.
- Corona B., Rodriguez M., Martinez S. 2004. Anaplasmosis Bovina. *Revista Electronica de Veterinaria REDVET* 3: (4-7).
- Dumler J. S., Barbet A. F., Bekker C. P., Dasch G. A., Palmer G. H., Ray S. C., Rikihisa H., Rurangirwa F.R. 2001. Reorganization of genera in the families rickettsiaceae and anaplasmataceae in the order rickettsiales: unification of some species of ehrlichia with anaplasma, cowdria with ehrlichia and ehrlichia with neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of ehrlichia equi and 'hge agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int j syst evol microbial*. 51: 2145-65.
- Inokuma H. 2007. Vectors and reservoir hosts of Anaplasmataceae. In: Raoult D, Parola P, eds. *Rickettsial Diseases*. Taylor & Grancis Group LLC. New York. 199–212.
- Jiménez O.R., Mosqueda G.J.J., Sahagún R.A., Rojas R.E.E., Oviedo O.N. y Rodríguez S.D. 2009. ANALISIS “*IN SILICO*” DE LA PROTEÍNA VIRB9 EN CEPAS MEXICANAS DE *ANAPLASMA MARGINALE*. VIII Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria Mérida, Yucatán, México (12).
- Jiménez, O.R., Rodríguez, C.S.D., Rosario, C.R., Orozco, V.L.E., de la Fuente, J. 2008. *Anaplasma marginale*: Análisis de las secuencias del fragmento variable del gen MSP1 α y del gen *msp4* de cuatro nuevas cepas Mexicanas. *Téc Pecu Méx* 46: 69-78.
- López, J.E., Palmer, G.H., Brayton, K.A., Dark, M.J., Dark, M.J., Leach, S.E. 2007. Immunogenicity of *Anaplasma marginale* type IV secretion system proteins in a protective outer membrane vaccine. *Infect Immun* 75(5): 2333-2342.

- López J.E., Siems W.F., Palmer G.H., Brayton K.A., McGuire T.C., Norimine. J. 2005. Identification of novel antigenic proteins in a complex *Anaplasma marginale* outer membrane immunogen by mass spectrometry and genomic mapping. *Infect Immun.* 73(12): 8109- 8118.
- Molad T., Mazuz M.L., Fleiderovitz L., Fish L., Savitsky I., Krigel Y., Leibovitz B., Molloy J., Jongejan F., Shkap, V. 2006. Molecular and serological detection of *A. centrale*- and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area. *Veterinary Microbiology* 113: 55–62.
- Palmer G.H., Rurangirwa F.R., Kocan K.M., Brown W.C. 1999. Molecular basis for vaccine development against the ehrlichial pathogen *Anaplasma marginale*. *Parasitol Today.* 15 (7): 281-286.
- Palmer G.H., McGuire T.C. 1984. Immune serum against *Anaplasma marginale* initial bodies neutralizes infectivity for cattle. *J. Immunol* 133: 1010-1015.
- Rodríguez S.D., García O.M.A., Jiménez O.R., Vega C.A., Murguía. 2009. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in México. *Infect Genet Evol* 9: 1092-101.
- Rodríguez-Vivas R.I., Mata-Méndez, Y., Pérez-Gutiérrez E., Wagner G. 2004. The effect of management factors on the seroprevalence of *Anaplasma marginale* in *Bos indicus* cattle in the Mexican tropics. *Trop Anim Health Prod* 36: 135-143.
- Rymaszewska A., Grenda S. 2008. Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Veterinarni Medicina* 53 (11): 573 – 584.
- Vidotto E.J. Venâncio and O. Vidotto. 2008. Cloning, sequencing and antigenic characterization of rVirB9 of *Anaplasma marginale* isolated from Paraná State, Brazil. *Genet. Mol. Res* 7 (2): 460-466.
- Potgieter F.T., Stoltsz W.H. 1994. Anaplasmosis. In: Coetzer, J.A.W., Thompson, G.R., Tustin, R.C. (Eds.), *Infectious Diseases of Livestock- With Special Reference to Southern Africa*. Oxford University Press, Cape Town, South Africa. 408–430p.

IMPACTO DE LA DOSIS DE N Y K EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE MANGO “ATAULFO” CULTIVADO EN SAN MARCOS, GUERRERO

Nieves Briceida Perez Meza¹, Tomás Díaz Valdés¹, Cesar San Martin Hernández², Ma. Dolores Muy Rangel², Carlos Alfonso López Orona¹, Felipe Ayala Tafoya¹

1. Maestría en Ciencias Agropecuarias Facultad de Agronomía-UAS. 2. CIAD (Centro de investigación en alimentación y desarrollo, unidad Culiacán)
perez.briceida@hotmail.com

INTRODUCCION

El mango (*Mangifera indica*) en México se cultiva en 23 entidades; sin embargo de estas, ocho representan el 94 % de la producción total, donde el estado de Guerrero destaca con el 19% del volumen de producción, con una superficie sembrada de 25,000 ha (SIAP, 2017). A nivel estatal el mango se produce en municipios de la costa chica y la costa grande, donde el mango “Ataulfo” se cultiva en una superficie en 7,000 ha (SIAP, 2017). La producción y calidad del fruto de mango en gran medida es afectado por la nutrición del cultivo, donde nitrógeno (N) es de los elementos en mayor concentración con 1.32 % y potasio (K) con 2.32 % (Rodríguez, Molina, y Calzada, 2006). En mango existen diversos estudios que señalan variaciones en las recomendaciones de fertilización de ambos nutrimentos. Sin embargo, las variaciones de fertilización son en parte debidas al cultivar, la condición climática, el estado fenológico del cultivo y la oferta nutrimental edáfica, de tal forma que la dosis de fertilización resulta variable en esta especie. En mango “Ataulfo” producido en la costa de Guerrero se cuenta con la recomendación de fertilización de 30 (N)-13 (P₂O₅)-20(K₂O) (Noriega, 2014), aunque no se indica la edad del huerto, el rendimiento y la oferta nutrimental del suelo. Hasta el momento no existen estudios donde se evalúen dosis de fertilización nitrogenada y potásica óptimas que produzcan el mayor potencial de rendimiento y la calidad del fruto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El mango es uno de los frutos de mayor consumo y producción en el estado de Guerrero, pero su cultivo se ha manejado con una fertilización no adecuada, lo que hace que se tenga mermas en la producción en relación al potencial de producción de este cultivar. Una opción es el establecimiento del cultivo de campo con una fertilización balanceada, lo que permitirá un mejor control del cultivo y minimizar los posibles daños ocasionados por agentes que limitan su productividad.

Una buena alternativa para los productores de mango “Ataulfo” es el uso de una buena fertilización, entre otros, ya que permite un mayor aprovechamiento del terreno y un manejo más controlado del cultivo, siendo esta una opción para obtener mayores rendimientos y ofrecer un producto de mayor calidad fisicoquímica y sensorial a los consumidores.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación será de tipo experimental y se realizará en la zona frutícola de San Marcos Guerrero y en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.) Unidad Culiacán. ¿Existe una dosis de abonado químico de nitrógeno y potasio que mejore el peso y calidad de la fruta de mango cv “Ataulfo”?

HIPÓTESIS

Las dosis de fertilización con N y K aplicadas a huertos de mango “Ataulfo” en San Marcos Guerrero, incrementan el rendimiento, mejoran la calidad del fruto y aportan datos para determinar la dosis óptima económica y fisiológica.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la dosis de fertilización de nitrógeno y potasio aplicado a huertos de mango “Ataulfo” que incremente la producción y calidad del fruto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la dosis optima de fertilización nitrogenada y potásica que potencien el rendimiento y tamaño comercial de mango “Ataulfo” en huertos de San Marcos, Guerrero.
- Evaluar la extracción nutrimental de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre en frutos y biomasa vegetativa del cultivo mango “Ataulfo”, en función de las dosis crecientes de fertilización nitrogenada y potásica estudiadas.
- Analizar la respuesta de las dosis de fertilización sobre la calidad poscosecha del fruto de mango en cuanto a vida de anaquel, atributos físicos (color, firmeza), químicos (pH, acidez, SST) y nutricionales (azucare totales, azúcares reductores, vitamina C y carotenoides totales).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El experimento se realizará en San Marcos, estado de Guerrero, en las coordenadas 16°42'18" N y 99°23'03" O, a una altitud de 0 a 200 metros sobre el nivel del mar. En este estudio se trabajará con árboles de mango de diez años, establecidos a distancias de 10 x 10 m, en la zona sur de Guerrero, durante el ciclo agrícola 2019 a 2020. En el huerto de mango, se identificarán arboles con características homogéneas en sanidad, biomasa, altura no mayor a 5 m y diámetro de copa 4 m.

Durante la evaluación experimental desde la poda vegetativa de ramas y brotes, hasta la cosecha se colectarán datos climáticos en cuanto a: temperaturas máximas, mínimas diurnas y nocturnas (°C), humedad relativa diaria (%), radiación solar total (Watts m⁻²) y precipitación (mm), mediante la instalación de un data logger HOBO H8 (Oncet Computer Corporation, USA) y con datos colectados de la estación meteorológica más próxima.

El análisis químico de suelos, tejido vegetal y de calidad poscosecha de frutos se realizará en el laboratorio de nutrición vegetal del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C. Unidad Culiacán).

Dosis de fertilización

La dosis de fertilización nitrogenada y potásica se determinará con base al método racional (ecuación 1) (Rodríguez, 1993). La demanda nutrimental se obtendrá a partir de metas de rendimiento que oscila de 6 hasta 19 t ha⁻¹ en la zona productora de mango de Guerrero (SIAP, 2017), además de considerar la extracción por la biomasa podada.

$$\text{Dosis de fertilizante (kg /ha)} = \frac{\text{Demanda-oferta}}{\text{eficiencia}} \quad \text{Ecuación 1 (Rodríguez, 1993)}$$

Donde

Dosis de fertilizante= Dosis de fertilizante nitrogenado o potásico en kg ha⁻¹.

Demanda= La demanda de N y K, se determinará para cada meta de rendimiento (testigo, baja, medio y alto).

Oferta= Es el aporte nutrimental disponible del suelo en N y K.

Eficiencia= Eficiencia de aprovechamiento del fertilizante que en nitrógeno será en promedio de 0.5 y potasio 0.7 (Casto Luna *et al.*, 2006).

Muestreo de suelos y tejido vegetal

En la parcela experimental se tomarán seis muestras compuestas de suelo en forma estratificada (Mostacedo y Fredericksen, 2000) de 0 a 30 cm de profundidad. Cada muestra compuesta (1 kg) de cuatro submuestras (Mellado *et al.*, 2012), se recolectarán en los cuatro puntos cardinales de la zona de goteo del árbol para determinar la oferta N, P, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Fe, Cu, CIC, textura, pH saturación, conductividad eléctrica (dS m⁻¹), % saturación Na, K, Ca, Mg, Carbonatos, Bicarbonatos, Cloruros, Sulfatos.

En el huerto experimental se tomarán seis muestras de follaje podado y frutos en madurez fisiológica que serán secadas en estufa hasta peso seco constante (Mellado *et al.*, 2012). Posteriormente el tejido vegetal se analizará para determinar la concentración nutrimental en N (método Microkjeldahl), P, K, Ca, Mg, Mn, Zn, Fe, Cu y B (método 955.06 AOAC, 1998), reportando los valores en g y mg kg⁻¹ de materia seca.

Aplicación de tratamientos

Las dosis de fertilización se aplicarán preparando una solución nutritiva hasta un volumen de 200 litros con las fuentes nitrogenadas y potásicas determinadas. A cada árbol se aplicarán 2 L de solución nutritiva en cuatro puntos de la parte media de la zona de goteo de cada árbol.

La fertilización se realizará aplicando un riego inmediatamente después y en forma fraccionada como a continuación se indica:

- 50 % en antesis.

- 25 % cuando el fruto alcance $\frac{1}{4}$ del tamaño del final.
- 25 % cuando el fruto alcance $\frac{1}{2}$ del tamaño final.

Variables a evaluar

Variables agronómicas

Rendimiento. Se determinará pesando los frutos cosechados por árbol y el resultado se expresará en Kg árbol.

Peso promedio de frutos. Se determinará pesando cada fruto cosechado, sumando la cantidad total de peso y dividiéndola entre el número total de frutos, el resultado se expresará en gramos (g).

Porcentaje de frutos mango niño. Se determinará contando el número de frutos de mango niño cosechados y realizándose el cálculo respecto al número total de frutos cosechados, el resultado se expresará en porcentaje.

Dosis óptima económica de N, K y N*K

La dosis óptica económica se determinará de acuerdo con Volke, 1981; Salgado, 2003. Reportando los resultados de N, K y N*K en kg ha⁻¹.

Dosis óptima fisiológica de N, K, N*K

La dosis optima fisiológica se determina de acuerdo con Villon, 2009. Reportando los resultados de N, K y N*K en kg ha⁻¹.

Variables nutrimentales

Concentración nutrimental (N, P, K, Ca, Mg y S) de hojas recientemente maduras antes de la floración y después de la cosecha. Se realizará por digestión seca, el contenido de minerales se determinará por el método 955.06 (AOAC, 1998). Nitrógeno total se determinará por el método Microkjeldahl, el resultado se reportará en porcentaje. Fósforo se determinará por el método 955.06 (AOAC, 1998), el resultado se expresará en porcentaje. La cuantificación para K se realizará directamente del extracto por emisión. Para la determinación de Ca y Mg se empleará el método de absorbancia con lámparas de cátodo hueco. El contenido de macronutrientes se reportará en porcentaje y los micronutrientes en mg kg⁻¹. El contenido de sulfatos se realizará mediante el método (APHA, 1980), la concentración de sulfatos se expresará en porcentaje de azufre.

Concentración nutrimental (N, P, K, Ca, Mg y S) de frutos en madurez fisiológica. Se realizará por digestión seca, el contenido de minerales se determinará por el método 955.06 (AOAC, 1998). Nitrógeno total se determinará por el método Microkjeldahl, el resultado se reportará en porcentaje. Fósforo se determinará por el método 955.06 (AOAC, 1998), el resultado se expresará en porcentaje. La cuantificación para K se determinará por espectrofotometría. Para la determinación de Ca y Mg se empleará el método de absorbancia con lámparas de cátodo, en un espectrofotómetro de absorción atómica. El contenido de macronutrientes se reportará en kg ha⁻¹ y los micronutrientes en mg kg⁻¹. El contenido de sulfatos se realizará mediante el método (APHA, 1980), la concentración de sulfatos se expresará en porcentaje de azufre.

Variables de calidad poscosecha del fruto

Los frutos (tres por unidad experimental) se cosecharán en madurez fisiológica para evaluar las variables de respuesta siguientes:

Vida de anaquel se determinará realizando análisis fisicoquímicos a los frutos de mango "Ataulfo", a los días 0, 7, 14 y 21 después de la cosecha simulando condiciones de mercadeo (Ortiz *et al.*, 2016).

Físicos (color y textura)

El color se realizará con un espectrofotómetro portátil Konica CM-700d (Minolta Inc.), (Gilbert, 1992; KONICAMINOLTA, 2007).

Firmeza se determinará por el método de punción con un penetrómetro digital Chatillon DFS-II con punzón de 8 mm de diámetro acoplado a una base automática TDC 200 (Chatillon). Los resultados se expresarán en Newton (N) donde 9.8 N equivalen a 1 kg fuerza.

Químicos (pH, Acidez, SST)

Potencial de Hidrógeno (pH) se determinará de acuerdo con el método propuesto por la AOAC (1998).

Acidez se determinará de acuerdo con el método propuesto por la AOAC (1998), con un titulador automático (Mettler Toledo Mod. L-50).

Sólidos Solubles Totales se determinará de acuerdo con el método de la AOAC (1998), con un refractómetro (Mettler Toledo Mod. 34 RM40), los resultados obtenidos se expresarán en %SST.

Nutricionales (proteína, azúcares totales, azúcares reductores, carotenoides totales y vitamina C)

Proteína se determinará por el método de la A.O.A.C 988.05 (Microkjeldahl) el resultado se expresará en porcentaje. Azúcares totales se determinarán por antrona (Rose *et al.*, 2003), el resultado se expresará en porcentaje. Azúcares reductores se determinará por el método enzimático (Gross, 1998). Carotenoides totales se determinará por el método espectrofotométrico (Tomas, 1975). El contenido de vitamina C se determinará por cromatografía de líquidos (Doner y Hick, 1981) los resultados se expresarán en mg de ácido ascórbico.

Diseño experimental

En este estudio se evaluarán dosis crecientes de nitrógeno y potasio. Las concentraciones de nitrógeno y potasio serán testigo (sin aplicación), bajo (6 t ha⁻¹), medio (12 t ha⁻¹) y alto (24 t ha⁻¹) determinadas como dosis de fertilización definidas por la ecuación 1. El diseño de tratamientos será un factorial completo con N y K en sus cuatro niveles con cuatro repeticiones por unidad experimental. La unidad experimental será un árbol de mango de diez años de edad en plena producción. El experimento se establecerá bajo un diseño completamente al azar.

Análisis estadístico

El análisis se realizará con el paquete de programación Statistical Analysis Software, Versión 9.0 (SAS Institute Inc., 2002), donde se determinará la dosis de N y K óptima económica y fisiológica mediante la optimización económica de SAS. Así mismo, a través del análisis de varianza (ANAVA) se analizarán las variables de calidad poscosecha para evaluar los efectos de los tratamientos; mientras que, las comparaciones de medias se efectuarán con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

LITERATURA CITADA

- Atlas Agroalimentario SIAP. 2017. Atlas Agroalimentario del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. México, D.F. http://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2017/Atlas-Agroalimentario-2017. Consultada febrero 2019.
- Castro L. I., Gavi R. F., Peña C. J. J., Núñez E. R., Etchevers B. J. D. 2006. Eficiencia de recuperación de N y K de tres fertilizantes de lenta liberación. (*Terra Latinoamericana*), 24(2): 277-282. ISSN: 2395-8030; <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57311108015>.
- DONER L. W., HICKS K. B. 1981. High-performance liquid chromatographic separation on ascorbic acid, erythorbic acid, dehydroascorbic acid, dehydroerythorbic acid and deketogluconic acid. (*Analytical Biochemistry*) 115: 225-230. ISSN: 0003-2697 DOI: 10.1016/0003-2697(81)90550-9.
- Gilbert J. 1992. Medida del color. Valencia, Servicio de publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia, España. 320 p.
- Konica-Minolta, 2007, Precise color communication. Color control from perception to instrumentation. Konica Minolta Sensing Inc. 59 p.
- Mellado V. A., Salazar G. S., Treviño F. C. A., González D. I. J. L., López J. A. 2012. Composición y remoción nutrimental de frutos de mango 'Haden' y 'Tommy Atkins' bajo producción forzada. (*Revista mexicana de ciencias agrícolas*) 3(5), 925-941. ISSN: 2007-0934. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263123214007>
- NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Declaración de vigilancia publicada en el diario Oficial de la Federación el 23 de abril de 2003.
- Ortiz F. L. Z., Ramírez V. A. Z., Cervantes M. L. J., Muy R. M., Gómez L. M. A., García G. H. S., Montalvo G. E. 2016. Efecto del 1-metilciclopropeno en la maduración de mango "Ataulfo" en condición simulada para exportación a Europa. (*Revista fitotecnia mexicana*) 39(3), 305-316. ISSN: 0187-7380. <http://www.redalyc.org/articulo.a?id=61046936016>.
- Rodríguez V. L., Molina J. N. L., Calzada M. C. S. 2006. Diagnóstico fenológico nutrimental del mango (*Mangifera indica* L.) cultivar "Ataulfo" en el soconusco Chiapas. (*Agrofaz: publicación semestral de investigación científica*) 6(1), 121-136. ISSN:1665-8892 <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2303428>.

Noriega C. D. H., Cruzaley S. R., Alarcón C. N., Jiménez G. R. Manejo Integrado de mango cv. Ataulfo en la costa grande de Guerrero, México. (*Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*) Código INIFAP: MX-0-310311-52-01-01-12-41.

Rose J. K., Catalá C., González C. Z. H., Roberts J. A. 2018. Cell wall disassembly. (*Annual Plant Reviews online*), 264-324. DOI: 10.1002/9781119312994.apr0075.

Salgado G. S., Núñez E. R., Bucio A. L. 2003. Determinación de la dosis óptima económica de fertilización en caña de azúcar (*Terra Latinoamericana*) vol. 21, núm. 2, pp. 267-272. ISSN: 2395-8030. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57315595012>

Thomas, P. 1975. Effect of post-harvest temperature on quality, carotenoids and ascorbic acid content of elphonso mangoes on ripening. (*Journal of Food Science*), 40(4), 704-706. ISSN: 1750-3841 DOI: 10.1111/j.1365-2621. 975.tb00535. x.

RODRIGUEZ, J. 1993. La fertilización de los cultivos: Un método racional. Colección en Agricultura. (*Pontificia Universidad Católica de Chile*). pp. 291.

Villón G. V. 2009. Determinación de dosis óptimas de nitrógeno y potasio en el cultivo de tomate (*lycopersicon esculentum*) y pimiento (*capsicum annum*) en Río Verde cantón Santa Elena (Master's thesis, Universidad Estatal Península de Santa Elena/2009).

Volke H. V. 1981. Estimación de funciones de producción mediante regresión en experimentos con fertilizantes y densidad de plantas, con fines de determinación de óptimos económicos. Colegio de Postgraduados. (*Chapingo, México*): 65 p. ISSN: 2007-3828

Cultivo 2017 Mango "Ataulfo" www.SIAP.gob.mx consulta febrero 2019.

**SELECCIÓN DE GENOTIPOS DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.)
CULTIVADOS EN CASA SOMBRA EN EL VALLE DE MEXICALI, BAJA CALIFORNIA**

Aurelia Mendoza Gómez¹, Teresa de Jesús Velázquez Alcaraz², Leopoldo Partida Ruvalcaba², Tomás Díaz Valdés², Felipe Ayala Tafoya² y Mario Ernesto Vázquez Badillo³

¹Doctorado en Ciencias Agropecuarias del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agronomía; ³Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

RESUMEN

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es una de las hortalizas que en los últimos años ha cobrado importancia en México y en el mundo, esto debido a las diferentes propiedades que posee, tanto para su consumo en fresco, y su desarrollo en la industria farmacéutica. El estudio se realizó en el Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de Mexicali, ubicado en la carretera a San Felipe, Km. 7.5 Col. Colorado II, Mexicali, Baja California, México. El objetivo fue evaluar la respuesta del cultivo de chile habanero en malla sombra, bajo condiciones semiáridas, utilizando seis genotipos experimentales y una variedad comercial como testigo, se empleó fertirriego en todos los genotipos. La siembra se realizó el 04 de enero de 2018 en charolas de polietileno con 130 cavidades, previo a la siembra, la semilla fue tratada con ácido giberélico al 40%, con la finalidad de inducir mejor nacencia, se obtuvo un promedio de 97.24% de nacencia en los siete cultivares establecidos. El transplante se realizó el día 15 de marzo en casa sombra. Las variables evaluadas fueron: desarrollo de planta, altura, diámetro, días a primer corte, días a último corte, días en cosecha, rendimiento, y calidad de fruto. Los cultivares evaluados fueron seis líneas experimentales (HRA 7-1, HAN 1-30, HRA 1-1, HAN 25, HAN 1-40, y HUX 15-1), se utilizó como testigo la variedad comercial jaguar, se estableció un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Los siete cultivares incluyendo el testigo tuvieron buena respuesta en crecimiento, desarrollo y rendimiento por planta, mostrando en el análisis de varianza que estadísticamente no existe variación. El rendimiento arrojó una media de 24.53 t ha⁻¹, ante estos resultados, el cultivo de chile habanero tiene buen crecimiento, desarrollo y rendimiento de frutos en este ambiente, los genotipos evaluados se adaptan a las condiciones ambientales y son prometedores para fines comerciales.

Palabras clave: *Capsicum chinense* Jacq., casa sombra, selección, cultivares, rendimiento, adaptabilidad.

ABSTRACT

Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is one of the vegetables that in recent years has gained importance in Mexico and the world, this due to the different properties it has, both for its consumption in strawberries, and its development in the pharmaceutical industry. The study was carried out in the Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de Mexicali, located on the road to San Felipe, Km. 7.5 Col. Colorado II, Mexicali, Baja California, Mexico. The objective was to evaluate the response of habanero pepper culture in shaded mesh, under semiarid conditions, using six experimental genotypes and a commercial variety as a control, by using a general fertigation program applied to all genotypes. The sowing of the genetic material in trays was carried out on January 4, 2018 in polyethylene trays with 130 cavities, before the seed was treated with gibberellic acid at 40% of its concentration, in order to induce a good germination, so that an average of 97.24% of birth was obtained among the seven established cultivars, the transplant was performed on March 15 in, house shadow, during this period and until the end of the harvest which was on August 23, 2018, the general agronomic management was carried out to the crop and variable data were taken: plant development, height, diameter, yield in harvests, days at first cut, days at last cut, days in harvest. The cultivars evaluated were six experimental lines (HRA 7-1, HAN 1-30, HRA 1-1, HAN 25, HAN 1-40, and HUX 15-1), the commercial variety jaguar, released in 2012, was used as a control by the National Institute of Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP), which under shaded mesh protected conditions were established in a randomized complete block design with three replications. The seven cultivars, including the control, had good response in growth, development and yield per plant, showing in the analysis of variance that statistically there is no variation. For the performance variable, an average of 24.53 t ha⁻¹. was obtained, given these results, it is indicated that the cultivation of Habanero pepper has good growth, development and yield of fruits in this environment, and that one or more of all the genotypes under evaluation adapt to environmental conditions and are promising for selection for commercial purposes.

Key words: *Capsicum chinense* Jacq., shade house, selection, cultivars, yield, adaptability.

INTRODUCCIÓN

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) pertenece a las solanáceas, incluye unas 25 especies y su centro de origen es en las regiones tropicales y subtropicales de América Central, existen otras especies del género *Capsicum* cuyo fruto también es denominado ají, (Long, 1998). Diferentes centros de Investigación han establecido diversos programas de mejoramiento genético en este cultivo. En el 2003 el Centro de Investigación Científica de Yucatán inició un programa de mejoramiento genético del cultivo de chile habanero, los estudios realizados involucran desde aspectos básicos hasta formular un plan de rescate y resguardo del material genético de la región, se cuenta con el mayor banco de germoplasma

en Yucatán y el conocimiento base para obtener la denominación de origen, se han registrado ocho variedades de chile habanero ante el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) de la SAGARPA. Para realizar la investigación, se colectaron semillas de la región, estos materiales se caracterizaron morfológica, agronómica y molecularmente. Se hizo caracterización sustentada en 29 marcadores para describir a las plantas como la altura, color de la flor, color del fruto, etc. Con ello se estableció un banco de germoplasma, que actualmente cuenta con 300 accesiones. Posteriormente identificaron, protegieron genotipos de interés y desarrollaron protocolos para regenerar plantas in vitro, determinaron contenidos de capsaicina, variedades que conservaran las características pero que fueran más productivas, tolerantes y adaptadas a las condiciones de la región, se obtuvieron ocho variedades puras: cuatro naranjas, tres rojas y una amarilla (Centros CONACYT, 2016).

En México existe una gran diversidad de chiles como el habanero, sembrado en diferentes estados, principalmente en Yucatán, Tabasco, Campeche y Quintana Roo, donde se obtienen producciones que oscilan entre 10 y 30 t ha⁻¹. Los Valles de San Quintín y Mexicali, son una zona de importancia agrícola, más del 80% de sus actividades son relacionadas con la agricultura, desde el 2013 se han establecido siembras en la región de alrededor de 13 ha (SIAP, 2014 y SEFOA-BC, 2014). En Baja California, en los años 70's y 80's, se producían grandes extensiones de cultivos de chile a campo abierto, posteriormente se fue sustituyendo por otras hortalizas y frutillas, en los últimos años, la siembra de chile habanero se ha ido estableciendo a escala comercial en la zona costa Ensenada con alrededor de 10 ha anualmente y la región del Valle de Mexicali con 8 ha en condiciones de malla sombra, esto de acuerdo a datos obtenidos con productores durante los años 2015-2018. Malveira *et al.* (2008), realizaron una caracterización morfológica y genética sobre la diversidad del género *Capsicum chinense* Jacq. En Rio Negro, amazonas, Brasil, encontraron diversidad genética en 38 accesiones de genes, con lo cual aseguran que la mayoría de las diferentes variedades de habaneros tienen una caracterización morfológica similar (forma, tamaño, estructura), la diversificación existe en cuanto a la coloración. Las caracterizaciones se realizaron mediante 51 descriptores morfológicos y la mayor variación fue encontrada en el fruto, al mismo tiempo aseguran que el habanero se puede extender en cualquier región tropical del mundo, siempre y cuando se genere esa adaptabilidad a dichas condiciones.

En el 2012, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias desarrolló la variedad Jaguar de chile habanero, la cual cuenta con características de planta y fruto con tolerancia a mancha bacteriana, pudriciones de la raíz, enfermedades virales y minador de la hoja, así como un incremento de su rendimiento superior al 36 por ciento, resistente a ambientes extremos y mayor vida en anaquel.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente el cultivo de chile habanero no ha tenido un crecimiento en base al número de hectáreas sembradas en el estado de Baja California, aunque existe demanda de mercados nacional e internacional, toda vez que se desconocen los genotipos que se adaptan a las condiciones de la zona en cuestión, ya sea en condiciones de casa sombra o campo

abierto, con buen crecimiento, desarrollo y rendimiento en comparación a lo que expresan en las regiones productoras de México.

HIPÓTESIS

Los genotipos evaluados en casa sombra en el Valle de Mexicali, Baja California, se adaptan a las condiciones edafoclimáticas de la región, asimismo expresan buen potencial de crecimiento, desarrollo y rendimiento.

OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS

Evaluar y seleccionar genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo casa sombra en el Valle de Mexicali, Baja California.

- a) Seleccionar los mejores materiales de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en base a diferentes características agronómicas
- b) Discriminar los cultivares de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) que no cumplan con las características esperadas durante dos ciclos consecutivos de selección.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó bajo casa sombra en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-CEMEXI), ubicadas en el Campo Experimental Valle de Mexicali, en la carretera a San Felipe, Km. 7.5 Col. Colorado II, Mexicali, Baja California, México. Cuenta con un clima extremo cálido-seco con temperaturas arriba de los 40 ° en verano y bajo cero en invierno, con una precipitación pluvial media anual de 132 milímetros, su ubicación geográfica de 31° 45´ 37" latitud norte y 115° 15´ 33" longitud oeste, con altitud de 15 msnm. El tamaño de la malla sombra fue de 400 m² con una altura de 3.3 metros, la parcela útil fue de 90 m², tres surcos de 15 m de largo, 80 cm ancho 1 m entre surco, Se estableció un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, de acuerdo a la metodología de Steel y Torrie (1980), utilizando el modelo estadístico: $y_{ij} = m + t_i + b_j + e_{ij}$, cada bloque se estableció con los siete genotipos sembrados a doble hilera con una distancia entre plantas de 50 cm. Los genotipos fueron: T1 Variedad comercial JAGUAR, como testigo, T2-HRA 7-1 (habanero rojo, determinado), T3-HAN 1-30 (habanero naranja indeterminado), T4-HRA 1-1 (habanero rojo, determinado), T5-HAN 25 (habanero naranja, indeterminado), T6-HAN 1-40 (habanero naranja, indeterminado), T7-HQR 15-3 (habanero naranja, indeterminado), la variedad jaguar de polinización libre, fue creada y liberada por el INIFAP-Campo Experimental Las Huastecas

en Altamira, Tamaulipas en el 2012, actualmente es la variedad que más se establece en la República Mexicana. La siembra se realizó el 04 de enero de 2018 en charolas de polietileno con 130 cavidades, establecidas en una empresa privada; para inducir una buena germinación y nacencia de semillas, previo a la siembra, se realizó un tratamiento 24 horas antes, el cual consistió en la aplicación de ácido giberélico al 40%, utilizando 2 gramos por litro de agua, se sumergió la semilla en la solución, de manera que quedara cubierta en su totalidad y se dejó ahí por 24 horas. El trasplante se hizo el 15 de marzo del mismo año, el inicio de cosecha fue a los 112 días después del trasplante, el primer corte fue el 05 de julio del 2018, el segundo fue el 20 de julio, el tercero el 01 de agosto y el último se realizó el 23 de agosto de 2018. Las variables de estudio fueron: porcentaje de germinación, fenología, velocidad de crecimiento de plantas, número de frutos por planta, longitud de frutos, diámetro de frutos, peso de frutos, grados brix, firmeza y color de frutos, calidad de la semilla y rendimiento. Para determinar la fenología de los genotipos, se registraron datos de inicio de floración, inicio y fin de cosecha y número de cortes durante todo el ciclo. La forma, color, vida de anaquel de frutos, unidades Scoville y las etapas de desarrollo fueron estipulados como caracteres cualitativos, mientras que el resto de características se consideraron como variables cuantitativas. Los datos numéricos fueron sometidos a análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias con la prueba de Tukey con $\alpha \leq 0.05$, en el paquete estadístico Statistix 8.



Figura 1. Acondicionamiento, siembra y desarrollo de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en Baja Plants, S.A. de C.V. San Quintín, B. C. Enero, 2018.



Figura 2. Preparación de la parcela útil en el lote experimental, transplante y desarrollo del cultivo de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en casa sombra, Valle de Mexicali, B. C. Marzo – Mayo, 2018.



Figura 3. Cosechas en los genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en casa sombra, Valle de Mexicali, B. C., julio - agosto, 2018.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La nacencia de los diferentes genotipos inició a los 19 días después de la siembra (dds), los avances fueron graduales en cada uno de los materiales. De los siete genotipos sembrados se obtuvo un promedio de 97.24 %, aunque la variedad comercial Jaguar presentó 100 % (Cuadro 1). De acuerdo con Catalá *et al.*, 2008, existen diferentes factores, tanto bióticos como abióticos, que pueden afectar la germinación de semillas y la nacencia de plántulas, ya que ellos encontraron que el exceso de humedad afecta de manera considerable.

Cuadro 1. Porcentaje de nacencia de plántulas de siete genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Enero, 2018.

Tratamientos	Semillas sembradas	Plántulas nacidas	Porcentaje
T1 - Variedad Jaguar (testigo)	130	130	100
T2 - Línea HRA 7-1	130	125	96.15
T3 - Línea HAN 1-30	130	129	99.23
T4 - Línea HRA 1-1	130	125	96.15
T5 - Línea HAN 25	130	126	96.92
T6 - Línea HAN 1-40	130	124	95.35
T7 - Línea HQR15-3	130	126	96.92

Datos obtenidos en el sistema de producción de plántulas de Baja Plants, S.A. de C.V. San Quintín, Baja California, México.

En el análisis de varianza (Cuadro 2), estadísticamente se muestran diferencias significativas para las variables evaluadas, entre las diferentes líneas en relación con el testigo comercial, para rendimiento, se arrojó una media de 24.53 t, siendo superior al reportado en la producción media anual en el 2013, donde (SIAP, 2013) reporta un rendimiento promedio de 11.01 t ha⁻¹ en campo abierto, 42 t ha⁻¹ bajo invernadero y 22 t ha⁻¹ en malla sombra, con esto se refleja que el cultivo bajo condiciones protegidas hay un incremento de más de 20% en casa sombra, esto en base a los resultados que se obtuvieron en el 2013 cuando se liberó la variedad Jaguar (testigo comercial), la cual alcanzó más de 15 t ha⁻¹, bajo fertirrigación superando las 30 t ha⁻¹ en campo abierto y más de 36 t ha⁻¹ bajo condiciones de agricultura protegida. Los resultados obtenidos en esta investigación fueron muy similares. En peso promedio del fruto, peso promedio por planta, diámetro polar y ecuatorial de fruto, estadísticamente no muestran diferencias significativas, incluyendo días a primer corte, días a último corte, días en cosecha y número de cortes.

Cuadro 2. Resultados del análisis de varianza (cuadrados medios) de las variables evaluadas en los diferentes genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Diciembre, 2018.

FV	GL	RNDTH	NFPP	PPPK	PPF	DPC	DPF	NC	DC
-----------	-----------	--------------	-------------	-------------	------------	------------	------------	-----------	-----------

		A		g					
Rep.	2	12.53	664.43	0.01	3.11	42.85	56.81	0.19	42.8
Trat.	2	37.00*	1410.3	0.03	6.96	17.85	56.63	0.07	17.8
Error	12	29.76	337.87	0.02	1.71	17.85	49.47	0.07	17.8
Medi		24.53	96.43	0.74	8.01	113.43	45.61	3.9	47.5
a									
C.V.		22.24	19.06	22.23	16.35	3.73	15.42	7.21	8.88

FV – Fuentes de Variación, GL – Grados de libertad, RNDTHA-Rendimiento en toneladas por hectárea, NFPP-Número de Frutos por Planta, PPPKG-Peso por Planta por kilogramo, PPF-Peso Promedio de Fruto, DPF- Diámetro polar de fruto, DC - Días en Cosecha, NC – Número de Cortes, DPC- Días a Primer Corte, TRAT-Tratamiento, CV-Coeficiente de Variación.

Mendoza *et al.* (2016) realizaron estudios de rendimiento de un híbrido de chile habanero durante tres años bajo condiciones de invernadero en el valle de San Quintín y dentro de los resultados obtenidos, fue 72 t ha⁻¹. En cuanto a los materiales establecidos en condiciones de cielo abierto y malla sombra, no se obtuvieron resultados favorables, ya que las condiciones óptimas de temperatura para este cultivo son arriba de 18 °C, se obtuvo una producción de 4 t ha⁻¹ muy por debajo de la media de la producción en las regiones tropicales.

Cuadro 3. Rendimiento promedio en los siete genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.), en casa sombra en el Valle de Mexicali, B.C. Septiembre, 2018.

Genotipos	Rendimiento t ha ⁻¹ .
T1 - Variedad Jaguar (testigo)	19.15
T2 - Línea HRA 7-1	28.03
T3 - Línea HAN 1-30	23.61
T4 - Línea HRA 1-1	24.40
T5 - Línea HAN 25	28.08
T6 - Línea HAN 1-40	27.33
T7 - Línea HQR15-3	21.15

En el cuadro 3 se observan las medias en rendimiento de los diferentes genotipos de chile habanero establecidos bajo condiciones de casa sombra en el Valle de Mexicali, el tratamiento 2 y 5 correspondiente a las líneas experimentales HAN 1-30 y HAN 25, muestran 28 t ha⁻¹, superando a la variedad comercial Jaguar, la cual fue utilizada como

testigo. Ramírez *et al.* (2007) evaluó el potencial productivo de chile habanero en el sur de Tamaulipas a campo abierto bajo condiciones de temporal, obteniendo un rendimiento de 34 t ha⁻¹, cabe mencionar que de las seis líneas experimentales provienen del campo experimental de Las Huastecas al Sur de Tamaulipas.

CONCLUSIÓN

El cultivo de chile habanero cultivado bajo casa sombra en el Valle de Mexicali, tiene buen crecimiento, desarrollo y rendimiento de frutos, y uno o más de todos los genotipos en evaluación se adaptan mejor a estas condiciones ambientales y son prometedores para fines comerciales. Los seis genotipos experimentales, superan en rendimiento al testigo comercial bajo condiciones de casa sombra, el testigo comercial presentó una media de 19 t ha⁻¹, mientras que las líneas experimentales obtuvieron arriba de las 20 t ha⁻¹, siendo las más prometedoras, HRA 7-1 y HAN 25 con una media de 28 t ha⁻¹, seguidas de HAN 1-40 con 27 t ha⁻¹.

LITERATURA CITADA

- Long, S. J. 1998). *Capsicum* y cultura: La historia del chilli. 2ª edición México. Fondo de cultura Económica. pp. 77-81.
- Malveira, F. R., López R., Silva B. W., Gomes L. M. A., Medeiros F. F. 2008. Morphologic characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. Accessions along the upper Rio Negro – Amazonas. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 8: 187-194.
- Mendoza, G. A., Bazante G. I., Ruíz C. J., Pedro M. J. 2016. Análisis de Rendimiento en un Híbrido de Chile Habanero durante tres ciclos de evaluación. *Acta Fitogenética*, 3,124 p.
- Pacheco, M. J. A. 2005. Proceso de producción de chile habanero en salsa, a desarrollarse en el departamento del Petén. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Mecánica Industrial.
- Ramírez, M. M., Vázquez G. E. 2007. Potencial de producción del chile habanero (*Capsicum chinense*), en el sur de Tamaulipas. INIFAP. Campo Experimental Sur de Tamaulipas.
- Steel, R. G. D. y J. H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. Mc. Graw-Hill, New York. p. 481.
- SIAP. 2014. Cierre de la producción agrícola por cultivo. www.siap.gob.mx.

(Consultado en Agosto de 2018).

EFFECTO DEL ESTRÉS CALÓRICO SOBRE LOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS, PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS DE BOVINOS, OVINOS, CAPRINOS Y PORCINOS: MAPEO SISTEMÁTICO DE ESTUDIOS PRIMARIOS

Díaz, D.1,², Gaxiola, S.M.², Montero, A.²

¹ Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Avenida Universidad 3000, Copilco, Coyoacán 04510, Ciudad de México, México

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Boulevard San Ángel 3886, Predio Las Coloradas, 80246 Culiacán Rosales, Sinaloa, México. Tel. 6674-

Palabras clave: Ganado, Estrés calórico, parámetros productivos.

Introducción

Como homeotermos, los animales productivos logran mantener constante su temperatura corporal mediante un balance entre la ganancia y la pérdida de calor. La ganancia de calor se determina por la interacción entre los factores abióticos como la radiación solar y la temperatura ambiental, en conjunto con el calor generado por la actividad metabólica de los animales. Por el contrario, la pérdida de calor se produce mediante procesos de conducción, radiación, convección y evaporación, los cuales son afectados por la humedad relativa y la velocidad del viento (Collier, Renquist, & Xiao, 2017).

En cada tipo de animal productivo existe una zona de termoconfort, en la cual la temperatura corporal es independiente de los factores ambientales y se mantiene estable mediante un gasto mínimo y constante de energía (Nardone, Ronchi, Lacetera, & Bernabucci, 2006). No obstante, cuando la temperatura ambiental excede los valores de temperatura corporal de los animales se genera estrés calórico en ellos (Sejian, 2013); en consecuencia, se presenta una falla en los mecanismos de pérdida de calor que provocan una deficiencia en la respuesta termorreguladora de los animales (Renaudeau et al., 2012). Es por ello que, en condiciones de estrés calórico los animales productivos permanecen fuera de su zona de termoconfort y experimentan dificultades; no solo para afrontar las condiciones negativas del medio externo (Dobson & Smith, 2000), sino que requieren de energía extra para el proceso de termorregulación que les permite mantener su homotermia (Baile & Forbes, 1974).

Como es de esperarse, el estrés calórico genera pérdidas productivas en las diversas especies de animales de granja. En consecuencia, se ha generado una abundante cantidad de estudios científicos sobre los diferentes parámetros que afecta el estrés calórico. No obstante, no existe un estudio que sintetice de forma sistemática y objetiva la evidencia generada hasta la fecha; en consecuencia, en el presente estudio se realizó un mapeo sistemático de los artículos primarios que evalúan el efecto del estrés calórico en especies productivas, a partir del cual se generó un panorama actualizado de la investigación en el

tema para identificar tendencias de publicación, huecos de investigación y subtemas con suficiente información para realizar otros estudios secundarios.

Objetivo: Realizar un mapeo sistemático de estudios primarios que evalúan el efecto del estrés calórico sobre los parámetros fisiológicos, productivos y reproductivos de bovinos, ovinos, caprinos y porcinos.

Material y métodos: Para generar el presente mapeo sistemático se siguió el marco metodológico que se presenta en la **Figura 1** (James, Randall, & Haddaway, 2016). El reporte se realizó siguiendo las guías ROSES (Haddaway, Macura, Whaley, & Pullin, 2018) para mapeos sistemáticos y PRISMA (Liberati et al., 2009) para revisiones sistemáticas y meta-análisis. El enfoque para abordar el tema fue multifacético ya que intencionalmente se buscó recopilar estudios heterogéneos. Además debido al abundante cuerpo de evidencia sobre el tema, se seleccionó un enfoque amplio para realizar una caracterización inicial e identificar sub-temas y sub-grupos de evidencia para futuras revisiones sistemáticas (James et al., 2016).

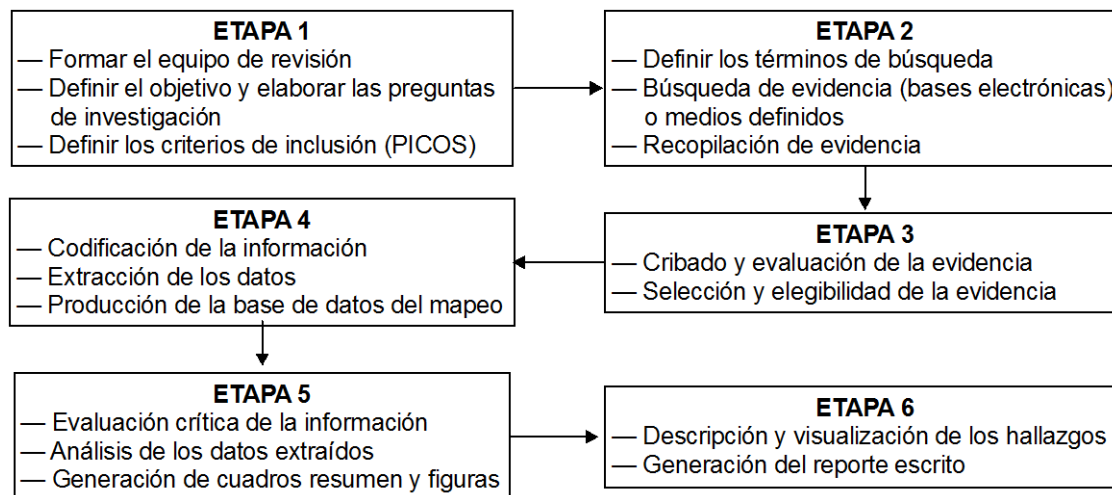


Figura 1. Representación esquemática de las etapas realizadas durante el proceso de mapeo sistemático. Modificado de James et al. (2016).

En el **Cuadro 1** se presentan las preguntas que se abordaron en la investigación. Los criterios de inclusión fueron definidos de acuerdo con el enfoque PICOS de la declaración PRISMA (**Cuadro 2**). Los estudios se identificaron mediante búsquedas en cinco bases de datos electrónicas (Pubmed, ScienceDirect, Scopus, Redalyc y Biblioteca Virtual en Salud) utilizando los términos de búsqueda que se presentan en el **Cuadro 3**. El proceso de selección de los estudios primarios fue realizado por dos revisores independientes, primero basados en el título, después a partir de la revisión de los resúmenes; para finalmente, realizar una evaluación y selección basados en los textos completos. Para comparar la

consistencia de los revisores se utilizó el estadístico Kappa de Cohen para determinar el índice de concordancia: 0.68-0.89 para las cuatro especies.

Cuadro 2. Preguntas de investigación.

Número	Pregunta
1	¿Cuál es la especie productiva que más se estudia dentro de la temática de estrés calórico y cuál de los tres aspectos (productivo, reproductivo o fisiológico) se aborda con mayor frecuencia?
2	¿Cuál sexo y grupo de edad se estudia con mayor frecuencia en las investigaciones?
3	¿Cuál tipo de estudio (experimento o cohortes) es más frecuente y en qué condiciones experimentales (cámara climática, medio ambiente o <i>in vitro</i>) se evalúa el estrés calórico?
4	¿Cuáles son las tendencias de acuerdo con los países en dónde se realiza la investigación, los años y el lenguaje de publicación de los estudios?
5	¿Cuáles son las principales revistas en las que se publican los estudios que evalúan estrés calórico sobre las cuatro especies productivas?
6	¿Cuáles son las variables de estudio más frecuentes de acuerdo con los parámetros fisiológicos, productivos o reproductivos?

Cuadro 2. Criterios de elegibilidad de acuerdo con el enfoque PICOS.

Acrónimo	Definición
(P) Población	Estudios que evalúen ovinos, bovinos, caprinos y porcinos de cualquier género y edad, cualquier raza o cruce y que sean animales sanos, sin diagnóstico de enfermedad y que se evalúen en cualquier etapa de producción dentro de cualquier región geográfica.
(I) Intervención	Consideramos como intervención a un grupo de animales expuestos a condiciones de estrés calórico de manera natural por el medio ambiente (época cálida del año) o de forma artificial mediante una cámara climática. También incluimos estudios que evaluaron <i>in vitro</i> el efecto de temperaturas altas (estrés calórico) sobre células o tejido proveniente de

animales productivos.

(C) Comparación Consideramos como grupo control a los animales no expuestos a estrés calórico, ya sea que se encuentren en confort térmico, protegidos de forma natural (época templada del año), artificial por una cámara climática o en el caso de células o tejidos, que hayan sido cultivados en valores fisiológicos de temperatura.

(O) Variables *Fisiológicas:* frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura corporal, flujo sanguíneo (uterino y umbilical), concentración de cortisol, hormonas tiroideas, indicadores metabólicos y expresión de proteínas de choque térmico.

Productivas: ingesta de agua y alimento, ganancia de peso, producción de leche, peso de la cría al nacimiento, peso al destete, conversión alimenticia, composición de la canal y eficiencia alimenticia.

Reproductivas: fertilidad, características de semen, duración y expresión del estro, gestación, intervalo entre partos, muerte embrionaria, calidad de los embriones y ovocitos, concentración de hormonas sexuales, tasa de concepción, desarrollo fetal y prolificidad.

(S) Tipo de estudio Consideramos exclusivamente estudios primarios en texto completo de tipo experimental o de cohortes publicados en revistas con revisión por pares. Consideramos restricciones idiomáticas (inglés, portugués y español) y temporales (1980 al 2018).

Para realizar la síntesis de la evidencia se elaboró un formato de extracción de los metadatos, los cuales se registraron en una base en Excel, a partir de la cual se realizaron los resúmenes de información, así como la frecuencia de aparición de cada una de las variables definidas en la codificación. Así mismo, se combinaron las variables individuales en cuadros de contingencia complejos con la intención de agrupar diferentes categorías.

Cuadro 3. Términos de búsqueda utilizados para identificar estudios primarios.

Acrónimo	Grupo	Término de búsqueda
(P) Población	Bovino	cow OR bull OR bovine OR heifer OR calf OR cattle
	s	pig OR boar OR porcine OR sow OR swine OR piglet
	Porcino	sheep OR ewe OR ovine OR ram OR ovis OR lambs
	s	goat OR does OR caprine OR capra OR buck
	Ovinos	
Caprino		

(I) Intervención	heat stress OR thermal stress OR climatic stress OR adverse climatic conditions OR environmental stress OR adverse temperatures OR heat tolerance OR high temperature OR high relative humidity OR temperature-humidity index
---------------------	---

Resultados

Selección de estudios: Se identificaron e incluyeron 466 artículos para las cuatro especies, los cuales se seleccionaron a partir de un total de 8521 registros que se obtuvieron de las búsquedas de bases electrónicas y mediante otras fuentes (**Figura 2**). De los artículos seleccionados, 49.8% correspondieron a bovinos, 22.3% a porcinos y por último se realizaron 18.4 y 9.4% de estudios en ovinos y caprinos, respectivamente. Los estudios que abordaron variables reproductivas fueron los más frecuentes (42.7% del total), seguidos de los estudios que evaluaron variables fisiológicas y por último las investigaciones que abordaron un enfoque productivo para evaluar el efecto del estrés calórico (**Figura 2**).

Estudios por sexo y edad de la especie, enfoque de investigación y diseño del estudio: En los estudios realizados con bovinos o porcinos predominó la evaluación de parámetros reproductivos; en contraste, la mayoría de los estudios realizados en caprinos evaluaron parámetros fisiológicos (**Figura 4A**). Por otra parte, 65.2% de los estudios utilizaron hembras (**Figura 3B**), mientras que 84.7% de las investigaciones utilizaron animales adultos (**Figura 3C**). Con respecto a la forma de inducir estrés calórico, 57.3% de las publicaciones utilizaron condiciones naturales y en 33.9% de los estudios se empleó una cámara climática para controlar experimentalmente las variables (**Figura 3D**). Por último, 326 artículos (70%) fueron estudios experimentales en los cuales predominó el enfoque reproductivo (**Figura 3E**).

Idioma de los estudios y país de origen: El idioma inglés se presentó en 95.2% de las publicaciones. América y Asia concentraron el 70% de las publicaciones con 208 y 131 investigaciones, respectivamente (**Figura 4A**). De forma particular en América, Estados Unidos contribuyó con el mayor número de estudios que se realizaron, le siguieron Brasil y México en segundo y tercer lugar, respectivamente (**Figura 4B**). En el continente Asiático India fue el país que más investigaciones aportó, seguido de Japón.

Diagrama de flujo ROSES para Mapeos Sistemáticos. Versión 1.0

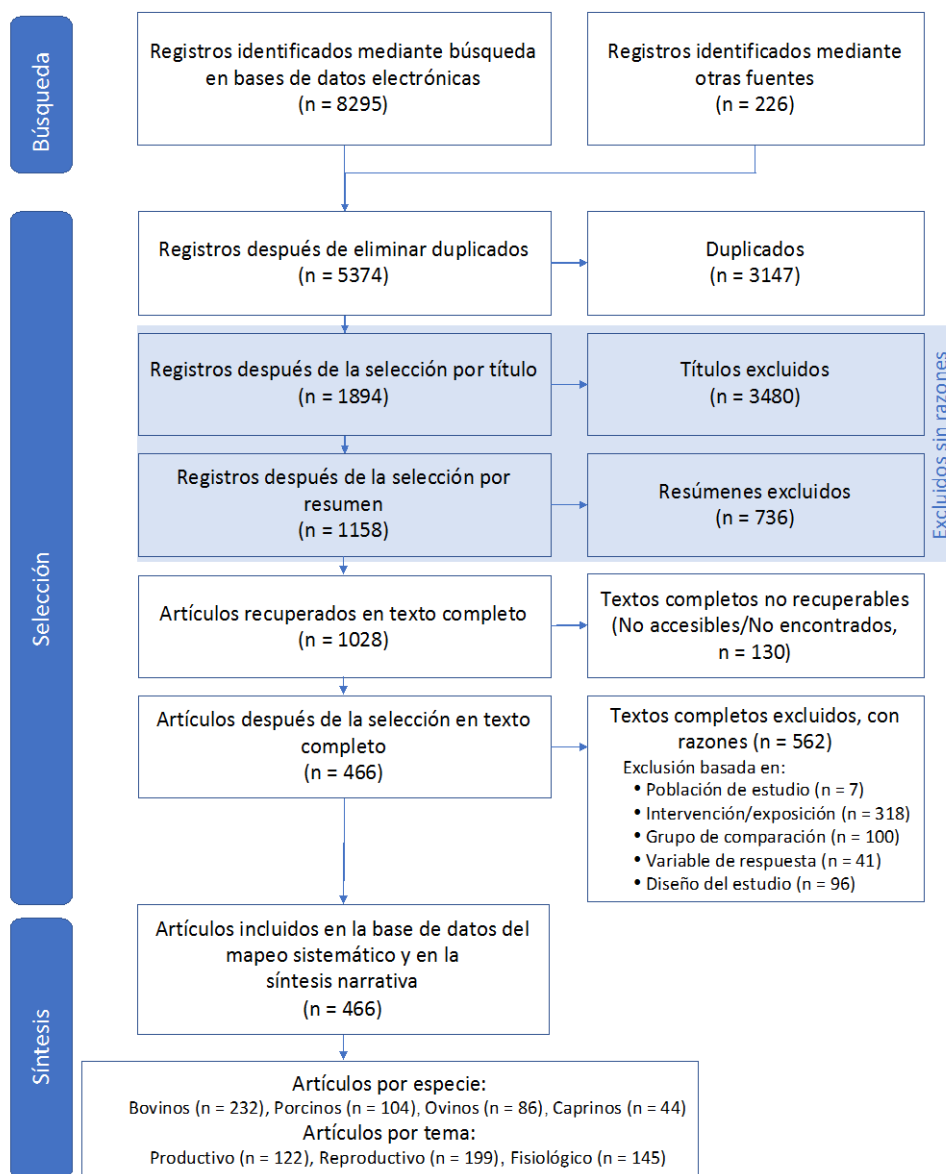


Figura 2. Diagrama de flujo ROSES de la búsqueda, selección y clasificación de artículos.

Frecuencia de publicación: En términos generales, de 2010 a la fecha se acumuló una gran cantidad de estudios (Figura 4C). En bovinos, entre 2000 y 2010 se alcanzó 47.4% del total de publicaciones acumuladas. Mientras que en porcinos de 1980-1990 se publicaron 10.5% del total de estudios y de 1990-2000 sólo se incrementó a 15.5%. En ovinos, por su parte se realizaron 30.2% de las investigaciones de 1980-2000, mientras que después del 2010 se publicaron más de la mitad del total de los estudios. Finalmente, en caprinos las publicaciones incluidas en el mapeo se empezaron a generar a partir de 1985 y para el 2010 sólo se habían publicado 36.6 % del total de los estudios.

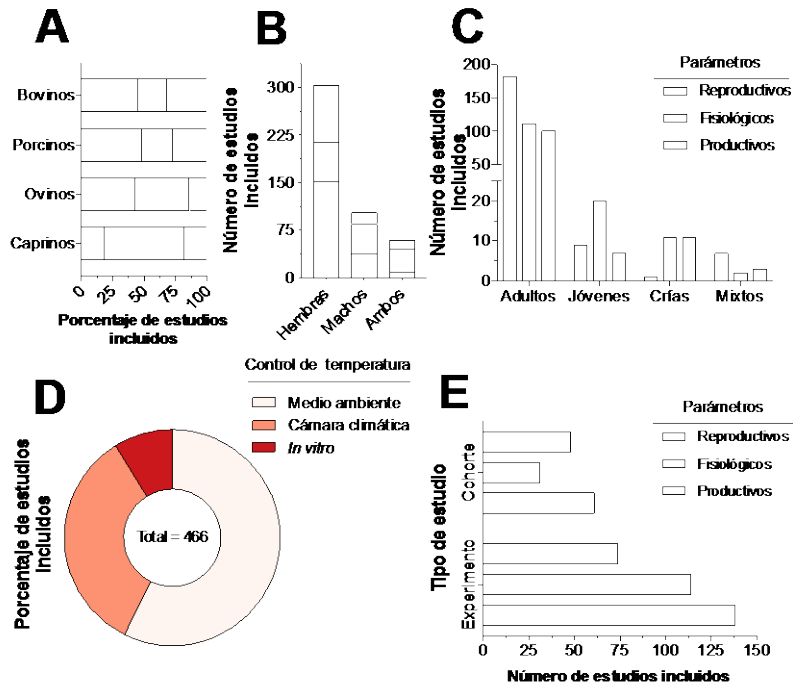


Figura 3. A) Distribución del porcentaje de estudios por especie de acuerdo con los parámetros evaluados, B) Número de estudios de acuerdo con el sexo de los animales, C) Estudios publicados por grupo de edad de acuerdo con los parámetros evaluados, D) Porcentaje de estudios de acuerdo con el control de temperatura y E) Número de publicaciones de acuerdo con el diseño del estudio y los parámetros evaluados.

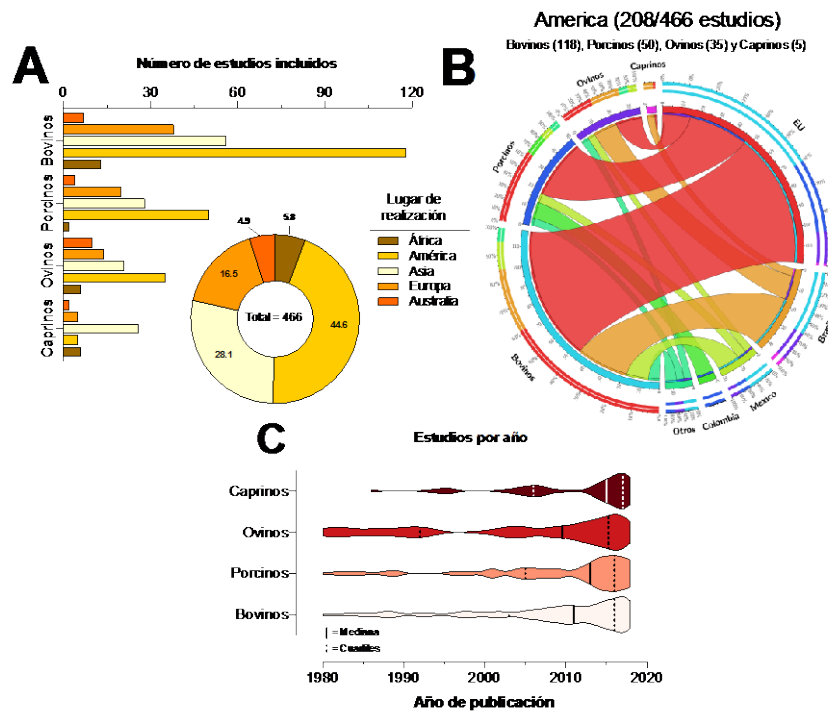


Figura 4. A) Número de estudios por especie productiva de acuerdo con el continente donde se realizó el estudio, B) Circos plot de la asociación entre los principales países que aportaron el mayor número de estudios en América y C) Gráfico de violín de la distribución temporal del número de estudios publicados por especie.

Principales revistas de acuerdo con la especie y el enfoque: La revista Journal of Animal Science apareció de forma consistente en las cuatro especies productivas y aportó 54 estudios, mientras que la revista Theriogenology contribuyó con 49 estudios distribuidos en tres especies (**Figura 5A**). Para el caso de los estudios realizados en bovinos, la revista Journal of Dairy Science aportó el mayor número de publicaciones, al igual que lo hizo Journal of Animal Science para el caso de los porcinos y de los ovinos. En contraste, la revista Small Ruminant Research aportó el mayor número de publicaciones en los caprinos (**Figura 5B**).

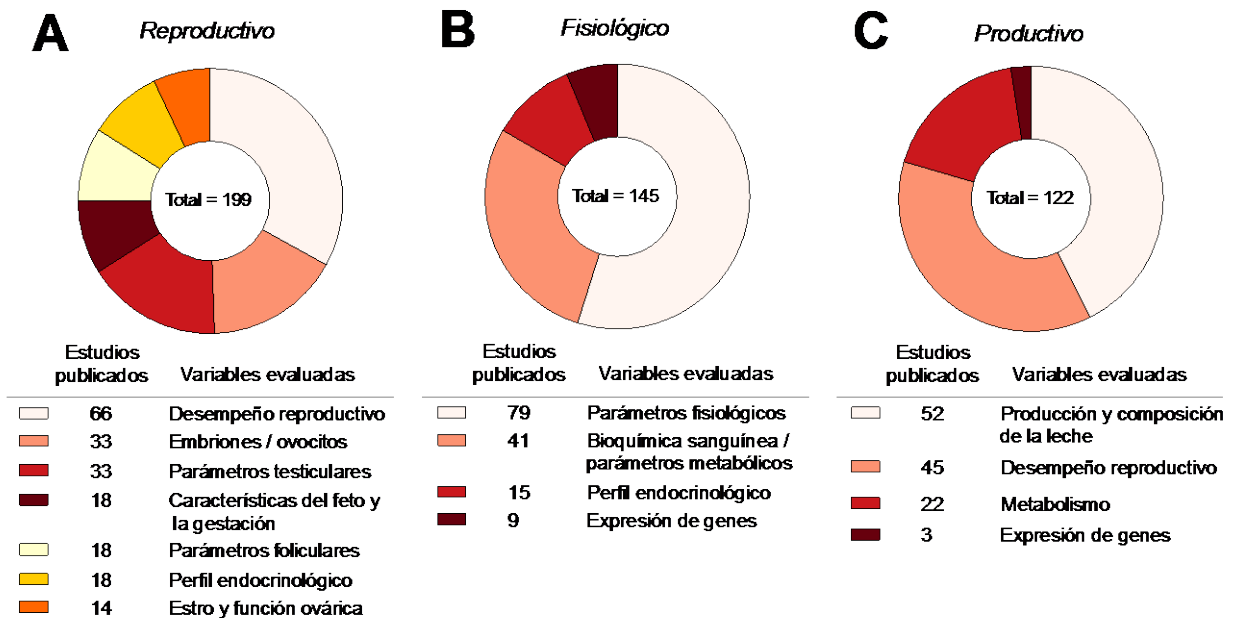


Figura 6. Distribución de los artículos publicados de acuerdo con grupo de variables evaluadas dentro de los estudios con enfoque A) Reproductivo, B) Fisiológico y C) Productivo.

Discusión

Tendencias generales: Durante los últimos 10 años aumentó el número de estudios primarios que evaluaron el efecto del estrés calórico en animales de granja. En los bovinos y ovinos, 47.4 y 52.3% de los estudios, respectivamente, se publicaron antes de 2010. En contraste, más de la mitad de la investigación científica realizada en porcinos y caprinos se ha publicado en los últimos seis años. El 72% de las publicaciones incluidas en el mapa sistemático se realizaron en América y Asia, siendo Estados Unidos e India los dos principales países con el mayor número de estudios publicados sobre el tema. Además, >60% de la investigación de los Estados Unidos involucró bovinos, mientras tanto en la India, el porcentaje más alto de publicaciones involucró cabras. Tres revistas (Journal of Animal Science, Journal of Dairy Science y Theriogenology) fueron los principales medios de comunicación de los estudios incluidos en el mapa.

Los estudios realizados con hembras superaron en número a los que emplearon machos o una mezcla de ambos sexos. Asimismo, >80.0% de las publicaciones utilizaron animales adultos y solo 23/466 estudios determinaron el efecto del estrés por calor sobre la descendencia de las especies productivas. Los estudios experimentales predominaron sobre los estudios de cohorte. Además, en los estudios experimentales, los parámetros reproductivos fueron el enfoque principal, seguidos de los resultados fisiológicos. En el 33.9% de las publicaciones se usó una cámara climática para inducir artificialmente el estrés

por calor en animales experimentales. Solo <9.0% de los estudios evaluaron el efecto de altas temperaturas en células o tejidos de las especies incluidas in vitro. Los estudios centrados en la reproducción incluyeron la mayor diversidad de resultados evaluados. En el caso particular de investigación centrada en parámetros productivos, la principal tendencia de publicación correspondió a la evaluación de la producción y composición de la leche.

Vacíos en la investigación: Fueron pocos los estudios de la especie caprina, además de que también se presentó un déficit de investigaciones con enfoque productivo y reproductivo en dicha especie. Adicionalmente, también fueron escasos los estudios realizados en razas cárnicas de la especie bovina y de razas de pelo en ovinos. Hubo gran disparidad en el idioma en el que se publican las investigaciones. Por último, se presentó un número muy limitado de estudios que evaluaron parámetros testiculares y de espermatozoides en machos bovinos.

Posibles temas de revisiones sistemáticas: De acuerdo al número de estudios primarios encontrados en la especie bovina se podrían realizar revisiones sistemáticas y meta-análisis sobre el efecto que tiene el estrés calórico sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein, así como en el déficit en el desempeño reproductivo que se presenta en las hembras de dicha raza que se exponen a condiciones de temperatura alta y elevado porcentaje de humedad relativa. Para el caso de los porcinos, es posible realizar estudios secundarios sobre el desempeño productivo y reproductivo, los parámetros fisiológicos y el efecto que tiene el estrés calórico sobre los parámetros testiculares y la producción y características del semen y los espermatozoides.

Limitaciones del mapeo sistemático: Debido al alto volumen de estudios sobre el tema de interés, consideramos que las principales limitaciones para el estudio fueron la falta de extracción completa de datos de cada artículo junto con la consecuente ausencia de una evaluación de la calidad de la evidencia. Asimismo, la naturaleza heterogénea de la evidencia dificultó la generación de resúmenes cualitativos y cuantitativos para los estudios. También el enfoque amplio del tema también afectó la síntesis de la evidencia porque se incluyeron tres grupos de parámetros y cuatro especies. Es posible que la inclusión de la restricción temporal (1980-2018) haya producido sesgos durante el proceso de la recopilación de datos para algunas especies. De manera similar, el patrón de distribución espacial de los estudios podría haber sido sesgado debido a la restricción idiomática impuesta durante el proceso de búsqueda y selección.

Conclusión: En el presente mapeo sistemático se recopiló, clasificó y sintetizó una gran heterogeneidad de investigaciones, las cuales se realizaron en cuatro especies productivas para evaluar el efecto del estrés calórico sobre las variables productivas, fisiológicas y reproductivas. Lo anterior fue posible debido al enfoque multifacético de la investigación. Mediante esta síntesis de evidencia es posible informar las tendencias de investigación para realizar futuros estudios primarios y definir líneas de investigación, así como para identificar cuerpos de evidencia robustos para realizar revisiones sistemáticas o meta-análisis. En particular se recomienda realizar estudios en machos en aspectos productivos y

reproductivos para la especie porcina, ovina y caprina

LITERATURA CITADA

- Baile, C. A., & Forbes, J. M. (1974). Control of feed intake and regulation of energy balance in ruminants. *Physiol Rev*, 54(1), 160-214. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4594031>. doi:10.1152/physrev.1974.54.1.160
- Collier, R. J., Renquist, B. J., & Xiao, Y. (2017). A 100-Year Review: Stress physiology including heat stress. *J Dairy Sci*, 100(12), 10367-10380. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29153170>. doi:10.3168/jds.2017-13676
- Dobson, H., & Smith, R. (2000). What is stress, and how does it affect reproduction? *Animal Reproduction Science*, 60, 743-752.
- Haddaway, N. R., Macura, B., Whaley, P., & Pullin, A. S. (2018). ROSES Reporting standards for Systematic Evidence Syntheses: pro forma, flow-diagram and descriptive ABSTRACT of the plan and conduct of environmental systematic reviews and systematic maps. *Environmental Evidence*, 7(1), 7. Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s13750-018-0121-7>. doi:10.1186/s13750-018-0121-7
- James, K. L., Randall, N. P., & Haddaway, N. R. (2016). A methodology for systematic mapping in environmental sciences. *Environ Evid BioMed Central.*, 5.
- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P. C., Ioannidis, J. P. A., . . . Moher, D. (2009). The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLOS Medicine*, 6(7), e1000100. Retrieved from <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000100>. doi:10.1371/journal.pmed.1000100
- Nardone, A., Ronchi, B., Lacetera, N., & Bernabucci, U. (2006). Climatic effects on productive traits in livestock. *Veterinary Research Communications*, 30(1), 75-81.
- Renaudeau, D., Collin, A., Yahav, S., de Basilio, V., Gourdine, J. L., & Collier, R. J. (2012). Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal*, 6(5), 707-728. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22558920>. doi:10.1017/S1751731111002448
- Sejian, V. (2013). Climate change: Impact on production and reproduction, Adaptation mechanisms and mitigation strategies in small ruminants: A review. *Indian journal of small ruminants*, 19(1), 1-21.

DETERMINAR LA INTERACCION DE *Spodoptera frugiperda* SMITH EN LA SEVERIDAD DE LA FUSARIOSIS EN MAIZ (*Zea mays* L.)

Armenta Chavez Rogelio ^{✉1}, Díaz Valdés Tomás^{✉2}, López Orona Carlos Alfonso^{✉2}, Ayala Tafoya Felipe², Yáñez Juárez Moisés Gilberto ², Velázquez Alcaraz Teresa de Jesús².

¹Estudiante del Doctorado en Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa. ²Profesor e Investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

[Correspondencia: mc.amentachavez@gmail.com](mailto:mc.amentachavez@gmail.com), tdiaz10@hotmail.com,
clopezorona@uas.edu.mx

INTRODUCCIÓN

El cultivo de maíz (*Zea mays* L.) es claramente el cultivo más importante en México, aproximadamente la mitad de territorio cultivable a nivel nacional es dedicada para su cultivo. Este se ve afectado a través de los años principalmente por plagas y enfermedades, donde se reportan a *Spodoptera frugiperda* Smith, así como a las enfermedades conocidas como pudrición de tallo, raíz y mazorca causada por *Fusarium* spp. involucrados en importantes pérdidas de rendimiento y calidad de la producción, A la fecha, *Spodoptera frugiperda* ha sido reportado como el insecto-plaga más importante para el cultivo de maíz en el Continente Americano (Molina-Ochoa *et al.*, 2001; Morillo y Notz 2001; Murúa y Virla 2004; De Melo *et al.*, 2006; Zenner de Polanía *et al.*, 2009). Mientras que las especies de fusarium spp. que atacan a este cultivo han alcanzado suma importancia en los últimos años debido a que algunas de estas producen micotoxinas cancerígenas conocidas como fumonisinas, En particular fumonisin B1 (FB1), B2 (FB2) y B3 (FB3), las cuales se acumulan en los granos de maíz dejándolo completamente inviable para el consumo humano y animal (IARC, 2002). A la fecha no existen reportes de esta enfermedad asociados al daño de *Spodoptera frugiperda*. En base a la importancia tanto de la enfermedad como de la plaga, es necesario realizar estudios más completos acerca de la interacción y las estrategias efectivas del manejo integrado de ambas. Para ello se plante elaborar el siguiente estudio, donde pretendemos elucidar la interacciones positivas o negativas que pueda existir entre la fusariosis y *Spodoptera frugiperda* Smith.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Generalmente, los insectos dañan las plantas directamente al alimentarse, debido a la remoción de tejidos, pero también indirectamente creando heridas o abriendo puntos de entrada usados por los hongos fitopatógenos para colonizar los tejidos dañados de las plantas (Stutz *et al.* 1985, Kalb *et al.* 1994, Munkvold *et al.* 1999). En este sentido, para el caso de la pudrición de tallo y raíz en el cultivo de maíz, existen algunos reportes donde el control de la plaga disminuye considerablemente la incidencia y severidad de la enfermedad (Smith L. *et al.*, 2018; Kalb, D. *et al.* 1994). En Indiana, EUA existe un reporte realizado por

(Parker, *et al.*, 2016) donde observa que la correlación del ataque de *Striacosta albicosta* y la severidad de la pudrición de mazorca causada por *Gibberella* spp. fase sexual de *Fusarium* spp. fue positiva, así mismo encontraron que la aplicación de un fungicida para el control de la enfermedad no es suficiente si existe la presencia del insecto. Por otra parte, (Mazzoni *et al.*, 2010) han reportado para el caso de *Ostrinia nubilalis* que el control del insecto reduce la producción de fumonisinas, sin embargo, sugieren que realizar un control tanto del insecto y el patógeno en floración es la mejor manera de reducir la severidad de la enfermedad y la producción de fumonisinas. Sin embargo, no existe información sobre la interacción que existe entre Gusano Cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith) y las enfermedades causadas por *Fusarium* spp.

HIPÓTESIS

- Existe un efecto en la severidad de la fusariosis respecto al daño ocasionado por *Spodoptera frugiperda* Smith en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto del daño de *Spodoptera frugiperda* Smith en la severidad de la fusariosis en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los biotipos de la especie *Spodoptera frugiperda* Smith presentes en el estado de Sinaloa.
2. Determinar la correlación que existe entre el daño de *Spodoptera frugiperda* Smith y la severidad de la enfermedad causada por *Fusarium* spp. en el cultivo de maíz.
3. Determinar si la interacción de la fusariosis con *Spodoptera frugiperda* Smith aumenta el desarrollo de las micotoxinas en el cultivo de maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizará en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en el valle de Culiacán, Sinaloa, México, en el kilómetro 17.5 de la maxipista Culiacán-Mazatlán, que se encuentra con la localización geográfica de 24°36'58" de latitud norte y 107°25'48" de longitud oeste, a una altura de 19 msnm (García, 1988).

Análisis de biotipos de *Spodoptera frugiperda* Smith en el Estado de Sinaloa.

Muestreo de larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith.

Se realizará un muestreo aleatorio estratificado (Krebs, 1998) dividiendo al estado de Sinaloa en los tipos de clima en que se establecen los cultivos, como controles positivos se utilizarán individuos previamente caracterizados como biotipos maíz y arroz, que serán proporcionados por el Dr. Nagoshi del Center for Medical, Agricultural, and Veterinary Entomology, USDAARS.

Análisis Moleculares de larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith.

Las larvas del tercer instar se colocarán a -70°C y posteriormente serán procesadas con el Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante mediante el protocolo de tejido animal. Cada larva se procesará de manera individual y las muestras de DNA se almacenarán a 4°C hasta su análisis. Posteriormente la amplificación de la región COI del DNA mitocondrial se realizará en un volumen de 25 µl que contenía: 5 µl de buffer Taq DNA polimerasa (5X), 0.5 µl de dNTP's (10 mM), 1.0 µl de cada oligonucleótido (5 µM), 0.2 µl (5 U/µl) de Taq DNA polimerasa (Promega, Madison, WI), 1.0 µl de templado. Los oligonucleótidos que serán utilizados para la región COI son JM76 (5'- GAGCTGAATTAGG(G/A)ACTCCAGG-3') y JM77 (5'- ATCACCTCC(AT)CCTGCAGGATC-3') (Bio-Synthesis, Inc. Lewisville, TX) (Nagoshi *et al.* 2006). El tamaño del amplicón es de 569 pb. Posteriormente se realizará una digestión agregando a un microtubo 10 µl del producto de la reacción de PCR y 2.5 U de la enzima de restricción MspI, si el amplicón contiene el sitio de restricción 5'...C[^]CGG...3' la enzima hará el corte correspondiente, indicando la diferencia entre ambos biotipos, los fragmentos de 497 y 72 pb son característicos del biotipo maíz, un solo fragmento de 569 pb es característico del biotipo arroz. Los productos se analizarán en un fotodocumentador mediante el programa Kodak Molecular Imaging., Para confirmar que el fragmento amplificado corresponda a la región COI de *S. frugiperda*, se llevara a cabo el análisis de su secuencia, para ello se realizara la purificación del producto de PCR. Posteriormente electroferograma obtenido será visualizado, editado y ensamblado con el programa DNASTAR Lasergene 8 (Madison, WI). Finalmente, las secuencias se alinearán para determinar el porcentaje de identidad con las secuencias reportadas en el NCBI con el programa ClustalX (EMBOSS)., se llevará a cabo la reacción de secuenciación, mediante las condiciones indicadas en el Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit en el equipo ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA). El

Diseño Experimental en Campo.

Se establecerá un diseño completamente al azar con arreglo factorial con 4 repeticiones (Cuadro 1). Los datos serán evaluados mediante un análisis de varianza y un análisis de regresión múltiple, para relacionar el daño de la enfermedad con el daño por gusano cogollero, así mismo se realizará una prueba de comparación de medias de tukey utilizando el programa estadístico SAS versión 6.0 (SAS Institute, Cary NC).

Cuadro 1.- Tratamientos y Factores a utilizar en el ensayo de campo.

Tratamiento	<i>Spodoptera</i>	<i>Fusarium spp.</i>
--------------------	--------------------------	-----------------------------

	<i>Frugiperda</i>	
1	Sin Control	Inoculado
2	Con Control	Inoculado
3	Sin Control	Infestacion Natural
4	Con Control	Infestacion Natural

Inoculación con *Fusarium* spp.

El inoculo de fusarium será preparado usando método de medio liquido de frijol judía. Para preparar el medio, 40g de frijol es añadido a 1 L de agua destilada (Bai y Shaner, 1996).

Aplicación de insecticida.

10 días después de la germinación, se realizarán aplicaciones de insecticida para el control de Lepidópteros, utilizando los siguientes productos y tiempo de aplicación:

Cuadro 2.- Ingredientes activos, formulaciones y dosis aplicadas en el ensayo de campo.

Formulación	Marca	Dosis (ml/Ha)	Modo de acción	Clasificación	Etapas de aplicación
Spinoteram 60 g/L SC	Palgus	100 ml/ha	Activador del receptor alostérico niconico de la acetilcolina	Spinosines	V1-V2
Emamectina 19 g/L CE	Denim	200 ml/ha	Activador del canal de Cloro	Avermectinas	V5
Novaluron 100 g/L CE	Rimon	150 ml/ha	Inhibidor de la biosíntesis de quitina, tipo 0	Benzoilfenilureas	V8-V10
Clorantraniliprole 18.4 g/L SC	Coragen	150 ml/ha	Modulador del receptor de la riadonina	Diamidas	R1

Metodología para el análisis morfológicos y moleculares del complejo de *Fusarium* spp.

Colecta de muestras

Se realizarán cuatro colectas a lo largo del ciclo del cultivo, la primera será entre las fases vegetativas V1-V3 utilizando la escala de Figueroa-Rivera, 2010, la segunda será en VT, la tercera será en R2 siguiendo la metodología de reportada por Hines, (2001). y la última será en R6 utilizando la scala de Briones-Reyes 2010. Las fases vegetativas mencionadas son las reportadas en la escala de Ritchie y Hamway, 1982. Las primeras dos colectas se realizarán tomando como muestra tallo y raíz, mientras que para las últimas dos tomaremos en cuenta el fruto.

Aislamiento de *Fusarium* spp. del cultivo de maíz.

Aislamiento de tejido vegetal

Tanto las raíces como los tallos serán cortados en pequeños pedazos (2mm) y esterilizados superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% durante cinco minutos, posteriormente serán lavados tres veces con agua destilada estéril. El tejido posteriormente será cultivado en placas con medio Nash-Snyder (Leslie and Sumerall, 2006) e incubado a 25°C durante 14 días.

Aislamiento a partir de granos de maíz usando el método del papel secante y congelamiento

Para esterilizar granos de maíz, 100 granos de cada muestra serán desinfectados superficialmente con hipoclorito de sodio al 2% (NaOCl) durante 1, posteriormente serán enjuagando tres veces con agua destilada estéril. Los granos desinfectados serán secados entre dos capas de papel filtro esterilizado. Posteriormente estos granos desinfectados (25 granos/placa de Petri y cuatro placas de Petri/muestra) serán plaqueados en placas con agar agua con ampicilina (200 ppm) e incubadas a 25° C por tres días (Warham *et al.*, 1996).

Identificación Morfológica de los aislados fúngicos:

Los aislados serán identificados de acuerdo con sus características morfológicas y microscópicas descritas por Barnett y Hunter (1998) y Nelson *et al.*, (1983).

Extracción de DNA y PCR.

Para la extracción del ADN se va a utilizar el método del CTAB, primeramente, el micelio del hongo se obtiene raspando con un asa bacteriológica estéril a partir del medio sólido, este se coloca en mortero y pistilo de porcelana, los cuales esterilizan durante 5 min en un horno de microondas electrodoméstico y finalmente enfriados a - 70°C. Después se agrega 1 mL de amortiguador de extracción que contenga: NaCl 30 mM, ácido etilendinitrilo tetracético 30 mM (EDTA) y Tris Base 250 mM (pH 8.5), el cual se macera. El producto de la maceración se coloca en tubos Eppendorf de 1.5 mL con su respectiva etiquetación. Enseguida se añade a la muestra 100 µL de cetiltrimetilbromuro de amonio al 10% (CTAB) y 250 µL de Cloruro de Sodio 5M (NaCl) incubándose a 65°C durante 30 min y, posteriormente se centrifuga a 13,000 rpm durante 10 min y transcurrido este tiempo, la solución acuosa (sobrenadante) se transfiere a un tubo nuevo manualmente. A la solución acuosa se le añade un volumen de cloroformo frío (v/v) y se agita con un equipo de vortex 65 durante unos segundos, y posteriormente se centrifuga a 10,000 rpm durante 5 min, una vez transcurrido este tiempo, mediante pipeteo (manualmente) la solución acuosa se transfiere a un tubo nuevo (se debe tener mucho cuidado de no tocar la interfase con la pipeta), agregándosele un volumen isopropanol absoluto frío y agitándose manualmente. Posteriormente, las muestras son almacenadas en un equipo de refrigeración a -20°C durante una hora para permitir la precipitación del ADN. Ocurrido este tiempo, las muestras en tubos son centrifugadas a 13,000 rpm durante 10 min para obtener la pastilla de ADN, para ello se esperó dos horas para que el ADN se deshidratara y finalmente el ADN obtenido de los diferentes aislamientos se resuspenden en 50 µL de agua libre de nucleasas HPLC (Promega) y almacenado a 4°C para su conservación (Velarde, 2014).

La calidad del ADN será confirmada utilizando los iniciadores ITS1 and ITS4 (Cuadro 3) que amplifican *Fusarium* tal como lo descrito por Yli-Mattila *et al.*, (2004). El par de iniciadores, Verprof / VERTI-R los cuales son específicos para el aislado productor de fumonisin *F. verticillioides* y el par de iniciadores Taqfum- f 2/VPgen- R3 los cuales son específicos para *F. verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. globosum* and *F. nygamai*, serán usados para la detención e identificación aislados productores de *Fusarium* tal como lo describe Waalwijk *et al.*, 2008 (Table 4). MJ Research termociclador (PTC-200) será usado para la amplificación del PCR. Alícuotas (5 µL) de cada producto de PCR será analizado mediante electrophoresis en un TBE buffer en un gel de agarosa al 1.0%, el cual será visualizado usando Alpha Innotech Corporation MultiImage Light Cabinet with Camera and Filters (Paavanen- Huhtala *et al.*, 1999).

Cuadro 3.- Secuencia de Primers utilizados para la detección molecular de *Fusarium* spp.

Primer	5'>3' Secuencia	Secuencia Objetivo y especie	Tamaño del amplicon	Autores
ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	Fungal Ribosomal DNA	650-700	Yli-Mattila <i>et al.</i> , (2004)
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC			
Taqfum-2F	ATGCAAGAGGCGAGGCAA	All fumonisin producers	180	Waalwijk <i>et al.</i> , (2008)
Vpgen-3R	GGCTCTCA/ GGAGCTTGGCAT	<i>F. verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. globosum</i> and <i>F. nygamai</i>		
Verpro-F	GCCATGCGTCACGGCCAC	<i>F. verticillioides</i> fumonisin producers	235	Waalwijk <i>et al.</i> , (2008)
VERTI-R	GGAGTAGACAGGGTATTTGC			

Metodología para el análisis del daño ocasionado por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith).

Evaluaciones de daño.

Las evaluaciones de daño por gusano cogollero se llevarán a cabo de manera semanal hasta R5, iniciando siete días después de la emergencia (Ritchie & Hanway, 1982), tomando por parcela los 2 surcos centrales, registrando el número de plantas sanas y dañadas, según escala Davis (Davis *et al.*, 1992).

Para el caso de las evaluaciones en etapa reproductiva, se revisará y se evaluará el porcentaje de daño tanto en espiga como en elote.

Análisis químicos para las fumonisinas.

Fumonisina B1 (1 mg, 96%; Acros orgánicos), metanol y acetonitrilo (ACN) serán comprados (Fisher Scientific UK Ltd., UK). Orthophthaldehyde OPA, Tween 80 serán comprados a Sigma (Sigma-Aldrich, UK). Todos los disolventes serán grado HPLC.

Preparación del Estándar.

Stock estándar de FB1 será disuelto en 1ml (ACN: H₂O (1:1)). 15 microlitros de la solución stock será diluida con la misma mezcla a 1ml para obtener 50 µg ml⁻¹. Estándares de trabajo (0.1, 0.5, 2.5 and 5 µg ml⁻¹ de FB1 en ACN: H₂O) serán preparados por una apropiada dilución de volúmenes conocidos de la solución madre (50 µg ml⁻¹) para obtener las curvas de calibración del análisis cromatográfico.

Determinación de la producción de fumionisinas por *Fusarium spp.*

El medio usado en este estudio será un medio de agar solido inductor de fumonisinas (Lopez et al., 2007). Las placas con este medio serán centralmente inoculadas con 3 µl de una suspensión de esporas de *Fusarium spp.* (1x10⁶spores ml⁻¹). Cuatro replicas para cada aislado serán incubados a 25°C durante 10 días. Posteriormente, cinco discos del cultivo fúngico serán removidos usando un sacabocado (0.8 cm) estéril, transfiriendo a un tubo Eppendorf de 2 ml previamente pesado y una vez realizado, será pesado nuevamente. FB1 será extraída por cada tubo eppendorf agregando 1 ml de (ACN:H₂O, 1:1), sacudiéndolo bien durante 30 minutos en una centrifuga. El flotante será filtrado a través de un papel de filtro de nylon 0.22µm. las muestras serán congeladas y conservadas a -20°C para un posterior análisis de fumonisinas mediante HPLC. Las muestras de Fumonisinas B1 serán extraídas acorde a AOAC (2007). El Sistema de HPLC usado para el análisis de FB1 fue Perkin-Elmer, series 200 system, equipado con quaternary pump series 200, Perkin-Elmer fluorescence detector set series 200 system at 335 nm excitation and 440 nm emission wavelengths. La columna de chromatografia será Phenomenex C18 (150 x 4.6 mm), 5 µm. La fase móvil será (23% 0.1M NaH₂PO₄:77% methanol), ajustando el pH a 3.35 usando ácido fosfórico, con una tasa de flujo de 1 ml min⁻¹.

LITERATURA CITADA

- Bai G. H. y Shaner G. 1996. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. Plant Dis 80: 975-979. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-80-0975>.
- Barnett, H.L., Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of imperfect fungi, 4th ed. The American Phytopathological Society, Saint Paul, MN, USA, pp. 172.
- Briones-Reyes, D., Gomez-Martinez, L. Cueva-Rolon, R. 2007. Zearalenone contamination in corn for human consumption in the state of Tlaxcala, Mexico. Food Chem. 100, 673-698, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.027>.
- Davis, F.M., Ng, S.S., Williams, W.P., 1992. Visual rating scales for screening whorl stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi Agric. Forestry Exp. Stn. Tech. Bull., 186.
- De Melo, E. P., M. G. Fernandez, P. E. Degrande, R.M.A. Cessa, J. L. Salomão, and R. F. Nogueira. 2006. Distribuição espacial de plantas infestadas por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. Neotrop. Entomol. 35: 689–697. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2006000500018>
- Figueroa-Rivera, M. G., Rodriguez-Guerra, R., Guerrero-Aguilar, B. Z., Gonzalez-Chavira, M. M., Pons-Hernandez, J. L., Jimenez-Bremont, J.F. Ramirez-Pimentel, J.G., Andrio-Enriquez, E., Mendoza-Elos, M. 2010. Caracterización de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición de raíz de maíz en guanajuato, Mexico. Rev. Mexic. Fitopatol. 28, 124-134. ISSN 2007-8080 *versión impresa* ISSN 0185-3309

- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. Instituto de Geografía. UNAM, México. 217 p.
- Hines, R., Shaw, J., White, D. 2001. University of Illinois (0-5) Stalk Rot Rating Scale, <http://fyi.uwex.edu./fieldcroppathology/files/2011/03/stalkrotscale.pdf>
- Kalb, D. W., G. C. Bergstrom, and E. J. Shields. 1994. Prevalence, severity and association of fungal crown and root rots with injury by the clover root curculio in New York alfalfa. *Plant Dis.* 78: 491-495. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-78-0491>.
- Krebs, C. J. 1998. *Ecological methodology*. 2ed. Benjamin Cummings. California, EE. UU. 620 pp.
- Leslie, J. F., Sumerell, B. A., 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell publishing, Ames, IA, USA, pp. 388.
- Marschner H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed., Academic Press, London, p. 889.
- Mazzoni E., Scandolara A., Giorni P., Pietri A., Battilani P. 2010. Field control of *Fusarium* ear rot, *Ostrinia nubilalis* (Hubner), and fumonisins in maize kernels. *Pest Manag Sci* 67: 458-465. <http://dx.doi.org/10.1002/ps2084>
- Molina-Ochoa, J., J. J. Hamm, R. Lezama-Gutierrez, M. Lopez-Edwards, and M. Gonzalez Ramirez. 2001. A survey of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) parasitoids in the Mexican states of Michoacán, Colima, Jalisco, and Tamaulipas. *Fla. Entomol.* 84: 31–36. DOI:10.2307/3496659
- Munkvold, G. P., R. L. Hellmich, and L. G. Rice. 1999. Comparison of fumonisin concentration in kernels of transgenic bt maize hybrids and nontransgenic hybrids. *Plant Dis.* 83: 130-138. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.2.130>
- Stutz, J. C., K. T. Leath, and W. A. Kendall. 1985. Wound related modifications of penetration, development, and root-rot by *Fusarium roseum* in forage legumes. *Phytopathology* 75: 920-924. DOI: 10.1094/Phyto-75-920.
- Smith J. L., Limay-Rios V., Hooker D. C. and Schaafsma A. W. 2018. *Fusarium graminearum* Mycotoxins in Maize Associated with *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae) Injury. *J. Econ. Entomol* 111 (3): 1227-1242. <http://dx.doi.org/10.1093/jee/toy005>
- Nagoshi, R. N., R. L. Meagher, J. J. Adamczyk Jr., K. Braman, R. L. Brandenburg, and G. Nuessly. 2006. New restriction fragment length polymorphisms in the cytochrome oxidase I gene facilitate host strain identification of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the southeastern United States. *J. Econ. Entomol.* 99: 671-677. DOI: 10.1603/0022-0493-99.3.671
- Nelson, P.E. Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. Pennsylvania State University Press, University Park, pp. 193.
- Parker, N. S., Anderson N. R., Richmond D. S., Long E. Y., Wise K. A., Krupke C. H. 2017. Larval western bean cutworm feeding damage encourages the development of Gibberella ear rot on field corn. *Pest Management. Sci* 73: 546-553. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.4313>
- Ritchie, S.W. and Hanway, J.J. 1982. How a Corn Plant Develops. Special Report No. 48, Iowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension Service.
- Smith L., Jocelyn & Limay Rios, Victor & C Hooker, David & Schaafsma, Arthur. (2018). *Fusarium graminearum* Mycotoxins in Maize Associated With *Striacosta albicosta*

(Lepidoptera: Noctuidae) Injury. Journal of economic entomology. <http://dx-doi.org/111.10.1093/jee/toy005>.

Warham E.J., Butler L.D., Sutton B. C. 1996. Seed testing of maize and wheat: A laboratory guide. Mexico, DF. CIMMYT.

Widstrom, N. W., A. N. Sparks, E. B. Lillehoj, and W. F. Kwolek. 1975. Aflatoxin production and lepidopteran insect injury on corn in Georgia. J. Econ. Entomol. 68: 855-856.

Zenner de Polanía, I., H. A. Arévalo-Maldonado, R. Mejía-Cruz, and J. L. Díaz-Sánchez. 2009. *Spodoptera frugiperda*: respuestas de distintas poblaciones a la toxina Cry1Ab. Rev. Colomb. Entomol. 35: 34–41.